Bogdan Sevastre

INTRODUCERE ÎN HEMATOLOGIA VETERINARĂ

AcademicPres

Cluj Napoca 2019

© Copyright 2019

Toate drepturile rezervate. Nici o parte din această lucrare nu poate fi reprodusă sub nici o formă, prin nici un mijloc mecanic sau electronic, sau stocată într-o bază de date, fără acordul prealabil, în scris, al autorilor.

e-ISBN 978-973-744-740-1

Director editură **– Prof. univ. Dr**. **Dan VODNAR**

Referenţi ştiinţifici**:**

Dr. Lucia Zalman,
Prof. Dr Ioan Marcus
Conf. Dr. Marian Taulescu Dipl ECVP
S.L. Dr. Sarpataki Orsolya

Editura AcademicPres
Universitatea de Ştiinţe Agricole şi Medicină Veterinară Cluj-Napoca
Calea Mănăştur, nr.3, 400372 Cluj-Napoca
Tel. 0264-596384
Fax. 0264-593792
E-mail: eap@usamvcluj.ro

Prefață

Hematologia este ramura medicală dedicată diagnosticării tulburărilor sanguine, și a sistemului hematopoetic. Investigațiile hematologice reprezintă o parte esențială a examenului de laborator de rutină; acesta oferind date esențiale pentru diagnosticul diferențial și monitorizarea răspunsului terapeutic.

Această carte răspunde unei nevoi reale în medicina veterinară, în acest moment neexistând în limba română o carte care să abordeze metodele moderne de explorare hematologică. Aceasta în condițiile în care aparatele moderne destinate cuantificării celulare automate și explorării hemostazei au intrat de mult în rutina clinicilor și cabinetelor veterinare.

Cartea "Introducere în hematologia veterianară" este dedicată în primul rând medicilor veterinari clinicieni. Ea nu își propune formarea de experți în diagnosticul hemaotologic de laborator, ci instruirii medicului veterinar clinician în vederea interpretării corelative a rezultatelor oferite de examenul hematologic și coagulometrie. Această carte conține o bibliografie actualizată semnificativă, dar ea nu ar fi putut fi scrisă în această formă fără o experiența practică semnificativă câștigată de colectivul nostru în ultimii ani.

Cunoașterea în domeniul diagnosticului hematologic ia amploare an de an, de aceea crearea unei cărți complete, actualizată, acoperind o astfel de zonă vastă, este o sarcină imposibilă, pentru un singur autor. Prin urmare, în cartea de față am selectat cunoștințe actuale pe care încerc să le prezint în mod sistematic punând accentul pe criterii de diagnostic diferențial bazate pe algoritmi de diagnostic general acceptat la nivel internațional. În plus, algoritmii de diagnostic diferențial sunt exemplificați prin cazuri clinice atent

selectate prezentate la sfârșitul cărții. Sunt prezentate de asemenea și imagini microscopice originale reprezentând aspecte morfologice relevante în diverse patologii hematologice.

Sper că am reușit să transmit cititorilor nu numai cunoștințele și abilitățile de bază ale diagnosticului hematologic, ci și pasiunea pentru domeniul captivant și în continuă expansiune al hematologiei veterinare.

Acestă carte a fost posibilă prin îndrumarea și suportul multor oameni. În primul rând, mulțumirile mele sincere se adresează Domnei Dr. Lucia Zalman pentru oportunitatea de a efectua un stagiu în Laboratorul de Hematologie din Centrul Medical Ha'Emek, un pas decisiv în expertiza mea în domeniul hematologiei, dar și pentru că, cu mulți ani în urmă, mi-a condus primi pasi în lumea științelor biologice.

Cunostintele și abilitatile mele in domeniu nu ar fi posibile fără munca de zi cu zi in Laboratorul de Hematologie din Departamentul de Fiziopatologie al FMV Cluj. Succesul laboratorului a fost posibil datorită implicării entuziaste a tuturor membrilor Departamentului de Fiziopatologie; mulțumiri speciale Domnului Prof. Ioan Marcus, Dr. Orsolya Sapataki, Tech.ing. Daniela Bochis și doctoranzilor Alexandra Blidaru și Amalia Neagu.

Nu în ultimul rând, aș dori să mulțumesc familiei mele, soției și părinților mei pentru sprijimul necondiționat pe care mi l-au oferit în toți acești ani...

Cluj-Napoca, 19 August 2019
Bogdan Sevastre,

Cuprins

Prefață 3

1. Principii analitice și metode utilizate în hematologie.....7

1.1. Prelevarea și păstrarea probelor de sânge 7

1.2. Investigații de rutină în hematologie..... 10

1.2.1. Examenul microscopic..... 10

1.2.2. Principiile cuantificării celulare..... 12

2. Patologia seriei eritrocitare.....16

2.1. Cuantificarea eritrocitară 16

2.2. Eritropoeza și fiziologia dinamicii eritrocitare 24

2.3. Anemia..... 27

2.3.1. Anemii regenerative..... 33

2.3.1.1. Anemii datorate pierderilor de sânge..... 33

2.3.1.2. Anemii hemolitice..... 37

2.3.2. Anemii neregenerative..... 41

2.3.2.1. Pancitopenia aplastică..... 43

2.3.2.2. Hipoplazia eritrocitară 44

2.4. Policitemia 50

3. Patologia seriei leucocitare.....53

3.1. Cuantificarea leucocitară 53

3.2. Generalitati privind fiziologia leucocitelor..... 55

3.3. Interpretarea variațiilor numerice leucocitare..... 56

3.4. Modificări hematologice asociate cu neutrofilie..... 60

3.4.1. Răspunsul inflamator sistemic 62

3.4.2. Răspunsul hematologic în reacția de “fugă sau luptă” 63

3.4.3. Răspunsul hematologic în stres..... 64

3.5. Modificări hematologice associate cu neutropenie..... 65

3.5.1. Consum crescut 67
3.5.2. Granulopoeza inadecvată 67
3.6. Modificări hematologice maligne 70
3.6.1. Tulburări limfoproliferative 71
3.6.2. Tulburări mieloproferative 76
4. Patologia hemostazei
4.1. Fiziologia hemostazei 80
4.2. Evaluarea hemostazei 84
4.2.1. Investigarea hemostazei primare 84
4.2.2. Investigarea hemostazei secundare (coagularea) 86
4.3. Afecțiuni asociate cu alterarea hemostazei 88
4.3.1. Alterarea hemostazei primare 88
4.3.2. Alterarea funcționala a factorilor coagulării 91
4.3.3. Coagularea intravasculară diseminată 97
5. Prezentări de caz 100
6. Anexe 146
Bibliografie 156

1. Principii analitice și metode utilizate în hematologie

Analizele utilizate în hematologia clinică pot fi efectuate pe probe de sânge integral sau plasmă. Acestea includ cuantificarea concentrației de celule din sânge, estimarea semicantitativă a celulelor sanguine pe frotiu de sânge, evaluarea morfologică a celulelor sanguine și evaluarea hemostazei (8).

1.1. Prelevarea și păstrarea probelor de sânge

Ca regulă generală, probele de sânge trebuie să fie colectate și păstrate în așa fel încât rezultatul obținut să reflecte compoziția reală a sângelui și nu modificări artefactuale. Imediat după colectare, proba de sânge trebuie omogenizate imediat răsturnând ușor tubul timp de zece ori, pentru a dispersa omogen anticoagulantul și pentru a menține celulele sanguine în suspensie. Proba de sânge trebuie să fie manipulate, și să păstrate nu mai mult de câteva ore pentru a evita hemoliza și modificările morfologice ale celulelor sanguine (16, 18).

Plasma este componenta fluidă a sângelui anticoagulat, de obicei rezultată prin centrifugarea probei de sânge. Serul este componenta de fluid de sânge coagulat obținut tot după centrifugare. În scopul de a obține cantitatea maximă de ser, centrifugarea trebuie efectuată numai după contracția trombusului, care durează în mod normal, mai mult de 30 de

minute. Activatorul de coagulare prezent în unele tuburi accelerează procesul (15, 17).

Serul are o compoziție similară cu plasma, cu excepția faptului că serul nu conține proteinele coagulante. In schimb, plasma conține anticoagulant, care poate interfera cu unele test, iar în cazul în care se utilizează coagulanți chelatanți; plasmă conține și concentrații mai scăzute de ioni, în principal, Ca^{2+}. Acesta este motivul pentru care plasma este de obicei folosit pentru testele de coagulare și nu este utilizat în mod obișnuit pentru investigații biochimice. Atunci când plachetele agregate în timpul formării trombusului, acestea elibereaza K^+, de aceea serul conține mai mult K^+ decât în plasmă (21).

Atunci când este utilizat pentru testele de coagulare, sângele (recoltat pe citrat) poate fi păstrat la temperatura camerei, sau refrigerate 8 - 12 ore. Cu toate acestea, dacă este posibil, sângele trebuie centrifugat imediat după prelevare și plasma recoltată în termen de 1 oră, și se păstrează la temperatura camerei timp de doar 4 ore înainte de testele de coagulare, în caz contrar ar trebui să fie înghețate. Plasma poate fi păstrat în congelator timp de 3 luni, iar la congelator timp de 18 luni (8, 28).

Anticoagulantele utilizate pentru colectarea probelor de sânge, pot fi împărțite în două categorii (1) anticoagulantele ce acționează prin legarea de calciu și (2), heparină (23, 30).

(1) anticoagulanții ce acționează prin legarea de calciu (se leagă de calciu si previne formarea trombusului). În această categorie sunt incluse EDTA, citratul și sărurile de oxalat (23, 30).

Etilendiaminotetraacetatul (EDTA) se prezintă sub formă de pulbere, ca sare de sodiu sau potasiu (Na_2 EDTA, K_3EDTA, K_2EDTA) - chelatează Ca^{2+}, dar și alți cationi ca Mg^{2+}, Cu^{2+}, Pb^{2+}, într-un mod foarte eficient, astfel este activ la o concentrație foarte scăzută. Acesta este motivul pentru care este utilizat pentru hematologia de rutina. Cu toate acestea utilizarea EDTA poate duce la aglutinarea plachetelor, ceea ce duce la erori în cuantificarea acestora. De aceea, pentru cuantificarea plachetelor, se recomanda utilizarea citratului (15).

Citratul ca citrat de sodiu – se prezintă sub forma lichidă (soluție 3,2%), chelatează și calciu, dar în cazul în care se adaugă un exces de calciu permite formarea trombusului. Acesta este utilizat atunci când plasma este colectată pentru testele de coagulare. Atunci când se utlizează citrat, este esenial ca vacutainerul să fie umplut pâna la semn, o umplere mai ptin de 90% din cantitatea recomandată compromite total determinarea, fiind un motiv întemeiat de respingere a probei. În acest caz, rămâne un exces de citrat, care absoarbe calciul ce se adaugă pentru realizarea testelor de coagulare. În acest fel se obţin rezultate eronate (15).

Citratul este, de asemenea, utilizat pentru colectarea sângelui utilizat în transfuzii, deoarece este relativ ușor inactivat de ficat (25).

Oxalații (ca sare de litiu, amoniu, săruri de potasiu), sunt rar utilizați în unele analize biochimice, nu este potrivit pentru hematologie (15).

(2) *Heparină* (pulbere, ca sare de litiu, amoniu, potasiu, sodiu) - activează antitrombină care împiedică în mod normal, transformarea protrombinei în trombină activă. Astfel, sfârșitul cascadei de coagulare este blocată și sângele nu se mai poate coagula (4). Este folosită pentru un teste speciale de laborator ca analiza gazelor din sânge, dar nu este recomandată în

hematologie. Ea modifică morfologia și proprietățile tinctoriale ale celulelor sanguine, în timp permite formarea coagulului (acest lucru este motivul pentru care este mai probabil să obstrucționeze tuburile capilare din analizoarele automate), și permite aglutinarea plachetelor sanguine (15).

1.2. Investigații de rutină în hematologie

Hemograma reprezintă analiza cantitativă și calitativă (incluzând atât analize de laborator cât și date calculate) ale celulelor sanguine si trombocitelor. Ea include *leucograma*, *eritrograma* și *trombograma* (15, 17).

Hemograma poate fi împărțită în două mari categorii, metode de cuantificare (care investighează concentrația celulelor sanguine din sânge și alte valori numerice referitoare la caracteristicile celulare) și examinarea microscopică a frotiului de sânge (17, 21).

Leucograma include cuantificarea leucocitelor și evaluarea lor microscopică (morfologică). Cuantificarea concentrației de leucocite din sânge este cunoscut sub numele de *Leucocite totale* sanguine (celule / µL). *Formula leucocitară* diferențiază leucocitele, de obicei, în cinci categorii (*neutrofile, eozinofile, bazofile, monocite și limfocite*). Ele sunt exprimate în procente (%) și/sau valori absolute (celule / µl) (17, 21).

1.2.1. Examenul microscopic

Examinarea frotiului de sânge este o parte a hemogramei. Colorațiile utilizate permit vizualizarea elementelor, astfel încât elementele eritrocitele, leucocitele și trombocitele pot fi vizualizate, identificate și evaluate cu ajutorul microscopului. Un frotiu de sânge preparat în mod corespunzător permite examinatorului pentru a vizualiza componentele celulare de sânge într-o stare cât naturală posibil (8, 25).

Lamele utilizate pentru frotiuri din sânge trebuie să fie curate fără grăsime și praf. Lamele cu margine mătuită sunt de preferat pentru că ele pot fi etichetate ușor (8).

Preparea frotiul de sânge. Frotiul este preparat prin plasarea unei picături mici de sânge bine amestecată la capătul din dreapta al unei lame amplasată pe o suprafață plană. Lama rodată (ce va fi utilizată pentru etalarea frotiului) este plasat la un unghi de 30° în fața picăturii (spre interiorul lamei față de picătură, astfel încât în momentul glisării lamei aceasta să nu treacă peste picătura de sânge). Lama rodată este apoi adusă în picătură de sânge până când picătură se întinde pe trei sferturi din marginea lamei rodate. De îndată ce sângele se întinde de-a lungul marginii, lama rodată este împinsă spre stânga, cu o mișcare constantă rapidă (evitând presiunea de pe diapozitiv) pentru a răspândi sângele într-un strat subțire. Apoi frotiul trebuie uscat cât mai repede posibil (8).

Frotiurile trebuie colorate imediat, în cazul în care aceasta nu este posibil, ar trebui să fie fixate în metanol 30-60 secunde, și apoi lăsat să se usuce. Astfel, ele pot fi colorate ulterior (17, 18).

Colorarea celulelor sanguine. De obicei, celulele sanguine sunt colorate prin metode derivate din colorația Romanowschi. Aceste metode combină o substanță care colorează în special celulele acidofile (cum ar fi

eozina) cu o substanță care colorează celulele bazofile (cum ar fi albastru de metilen). Acum sunt disponibile mai multe metode de colorare, se folosesc diferiți reactivi, dar întotdeauna unul este acidofil, iar celălalt este bazofil, cum ar fi Wright, Giemsa, Wright-Giemsa, Wright-Leishman. Metodele de colorare rapidă, se bazează pe modificarea Wright-Giemsa. Au redus semnificativ timpul de colorare, de aceea sunt utilizate în mod obișnuit în laborator veterinar (18).

1.2.2. Principiile cuantificării celulare

Cuantificarea celulară este esențială pentru diagnostic; metodele pot fi clasificate în metode manuale și automate. Metodele manuale sunt ieftine, în ceea ce privește reactivii folosiți, dar ele nu mai sunt utilizate în prezent, deoarece sunt laborioase și inexacte. Acesta este motivul pentru care au fost înlocuite cu metode automate, care sunt mai scumpe, dar mult mai eficiente și exacte. Ele numără mii de celule, astfel, eroarea de eșantionare este minimă. Cu toate acestea, metodele automate sunt fiabile doar atunci când populația de celule este în mod clar delimitat, prin urmare, în anumite situații patologice analizoarele automate nu pot oferi rezultate exacte. Acesta este motivul pentru care, în aceste situații, evaluarea morfologice este esențială pentru un diagnostic corect.

Metode de coantificare manuală

Primul hemocitometru a apărut în 1855 și timp de 100 de ani, acestea au fost singurele metode disponibile pentru cuantificarea celulelor sanguine.

In zilele noastre, aceste metode sunt rar utilizate pentru numărarea celulelor sanguine la mamifere (8), dar sunt utilizate pentru cuantificarea diferitelor celule în efuziuni și secreții, sau pentru a evalua sângele provenit de la specii cu eritrocite nucleate, cum ar fi păsări, reptile, broaște și pești (29).

Metode de cuantificare automată

Aparatele de cuantificare celulară automată se bazează pe diferite principii, principiile utilizate determină costul dispozitivului, costurile reactivilor și de întreținere, dar, și performanța și limitele fiecărui dispozitiv. De aceea este necesară o scurtă trecere în revistă a principiilor de funcționare a principalelor tipuri de analizoare automate folosite în hematologia veterinară. În hematologia veterinară nu pot fi utilizate aparate de uz uman, deoarece dimensiunea celulelor sanguine este semnificativ diferită. Acesta este motivul pentru analiza de sânge animal necesită analizoare special construite pentru uz veterinar. Meniul acestor aparate permite setarea speciei, astfel aparatul poate să recunoască celulele de dimensiuni specifice, caracteristice pentru specia respectivă.

Analizoarele pe bază de impedanță au fost primele analizoare de celule automate. Acestea au fost utilizate pentru prima dată în 1956, pe baza pe principiul inventat de Wallace H. Coulter (n. 17 Februarie, 1913 –d. 7 August 1998), de aceea sunt cunoscute ca și *analizoare de tip Coulter*. Aceste dispozitive au doi electrozi cufundați într-un fluid electrolitic, aceștia comunică doar printr-o mică deschidere. Celulele sanguine suspendate în lichidul trec una câte una, prin orificiu, și apoi părăsesc cuva. Atunci când o celula traversează orificiul, se creează o scurtă întrerupere a curentului, ce generează un vârf de tensiune, care este înregistrată. Amplitudinea voltajului

este corelată cu dimensiunea celulei. Numărul de particule găsite într-un anumit volum este apoi transformat în concentrație de celule sanguine. Aparatul are două cuve. Una dintre ele este dedicată eritrocitelor și trombocitelor, iar cealaltă leucocitelor. În prima cuvă dispozitivul recunoaște ca eritrocite celulele ce se găsesc în limitele de mărime pentru această categorie, celulele mai mici sunt recunoscute ca plachete, in timp ce celulele mai mari sunt ignorate. Volumul eritrocitar mediu (VEM) reprezintă volumul mediu al celulelor detectate în raza de acțiune eritrocitelor. In cuva dedicat leucocitelor, un reactiv distruge selectiv eritrocite și trombocite, și numai leucocitele sunt numărate și apoi clasificate, de obicei în trei categorii în funcție de mărimea (8, 23).

Citometrele optice sau laser, apar pentru prima dată în anii 70. În aceste dispozitive, celulele sanguine suspendate într-un diluant sunt injectate într-un fluid care curge într-un jet foarte îngust. Celulele se distribuie liniar în lichidul și interferează cu un fascicul laser, iar lumina laser este împrăștiată de celulă. Tipul de dispersie depinde nu numai de mărimea celulei, ci și complexitatea nucleară, suprafața, granularitate, etc. Aceste caracteristici sunt utilizate de programe de calculator pentru a identifica tipul de celule. Metodele au avantajul de a furniza cu exactitate formula leucocitară. Limita metodei este că unele celule anormale pot fi identificate în mod eronat (28, 23).

Citometrele de tip ADVIA utilizează o combinație între citometrie de flux și testul peroxidazei pentru a furniza o diferențiere leucocitară mai precisă. Testul peroxidazei se bazează pe faptul că leucocitele conțin cantități diferite de peroxidază. Cea mai mare cantitate de peroxidază este conținută de eozinofile, apoi neutrofile, monocitele conțin doar o cantitate mică, iar

limfocitele nu conțin peroxidază. În aceste aparate leucocitele sanguine sunt expuse la peroxid de hidrogen și un cromogen, care este oxidat la un precipitat negru. Apoi celulele trec printr-o rază de lumină și un senzor care detectează absorbanța luminii (datorită culorii) și dispersia luminii (din cauza dimensiunii), clasificarea celulelor în funcție atât de mărime și peroxidazei conținut (8, 17).

Analiza cantitativă microhematocritului folosește un tub special capilar, care conține un cilindru de plastic (denumit plutitor). Tubul capilar este umplut cu sânge anticoagualat și apoi centrifugat. Sângele este separat în plasmă, masă eritrocitară și între ele se etalează stratul ce conține leucocitele și plachetele. Coloana de leucocite și plachete este extinsă prin flotor (aceasta rămâne în strat leuco-plachetar deoarece are densitate similară), astfel încât cele trei componente ale stratului leuco poate fi în continuare diferențiate în trombocite, agranulocite (limfocite și monocite) și granulocite (neutrofilele, eozinofile și bazofilelor). Straturile sunt recunoscute prin utilizarea markerilor de fluorescență pentru ADN, ARN și lipoproteinelor, grosimea stratului este apoi convertită la concentrația celulară (17, 21, 29).

Citometria cu flux este cea mai avansată tehnică folosită în examenul hematologic; este utilizat atunci când celulele trebuie numărate și sortate în subpopulații celulare. Metoda folosește marcarea fluorescentă a celulelor, anticorpii cu marcaj florecent se atașează de antigene celulare specifice. Celulele se deplasează într-o linie în fluid și este identificată fluorescența, apoi celulele sunt distribuite conform semnalului fluorescent.

Citometria de flux este utilizată pentru sângele periferic, măduva osoasă, efuziuni chiar și țesuturi solide. Sângele periferic este de preferință colectat pe heparină, dar poate fi utilizat și sânge colectat EDTA.

Această metodă este utilă în special pentru diferențierea leucemiilor, se bazează pe principiul că fiecare etapă a diferențierii / activării celulelor este caracterizată de un tipar specific de expresie proteică cunoscut sub denumirea de *Cluster Designation* (CD). Aceste molecule pot fi identificate prin anticorpi cu marcaj florecent.

2. Patologia seriei eritrocitare

2.1. Cuantificarea eritrocitară

In mod tradiţional parametrii eritrocitari sunt diferențiați în parametri determinați și calculați, dar în noua lumina a numărării automate, această clasificare variază în funcție de metoda utilizată. În acest capitol vom prezenta cele mai importante parametri ce caracterizează eritrocitele.

Hematocritul (HCT), reprezintă procentul masei eritrocitare din toate sânge (%). HCT poate fi determinată prin centrifugare, fie cu dispozitive automat de cuantificare. Pentru centrifugare se folosesc de obicei tuburi capilare. Comparativ cu metodele mai vechi care folosesc tuburi, tuburile capilare nevoie de mult mai puţin sânge. Tuburile capilare pot fi tratate cu heparină și acestea sunt potrivite pentru probele de sânge proaspăt, în timp ce cele fără heparina trebuie sa fie utilizate numai pentru sângele colectat pe anticoagulante. Tubul capilar este apoi centrifugat la 15.000 rpm timp de trei minute. Înainte de centrifugare tuburile capilare trebuie să fie sigilate la

extremitatea exterioară (prin flacără sau cu plastilină de etanșare). După centrifugare sângele se separă sângele în straturi anume coloana de eritrocite, leucocite și tromobocite și supernatantul reprezentat de plasma sanguină. Lungimea coloanei de eritrocite, împărțită la lungimea totală a coloanei de sânge dă HCT. Analizoare automate calculează HCT și nu au îl determină în mod direct. Acesta este determinat prin înmulțirea numărului de celule roșii cu volumul eritrocitar mediu (27, 25, 30).

Hemoglobina (HGB) reprezintă cantitatea totală de hemoglobina conținută într-o anumită cantitate de sânge (g/dl, sau g/l). HGB este măsurată prin metode spectrofotometrice în care hemoglobina (eliberată din celule prin liză) interacționează cu diferiți compuși care măresc absorbanța luminii. Aceasta este metoda utilizată, de asemenea, de multe aparate automate. Ca dezavantaj, unele particule care interferează cu absorbția luminii pot crește în mod fals hemoglobina (colesterol, corpusculi Hentz). Un alt dezavantaj este faptul că această metodă nu face diferența între hemoglobină găsită în eritrocite și a celor care este liber în plasmă din cauza hemoliza.

Unele citometre optice (de tip ADVIA) folosesc o metodă specială, măsoară nu numai dimensiunea, dar și conținutul de hemoglobină din fiecare celulă. Un diluant special face eritrocite sferice în acest fel ele pot dispersa lumina într-un mod mai previzibil, umbra “low scatered light” determină volumul celulelor, în timp ce penumbra “high scatered light” este utilizată pentru a măsura cantitatea de hemoglobină celulară (și, de asemenea, pentru a diferenția eritrocitele din trombocite mari) (27, 25, 30).

Eritrocitele total (ET), este numărul de numărul de eritrocite conținute într-un volum de sânge (exprimat în 10^6 /µl, 10^6 / mm^3 sau 10^{12} / L). În mod tradițional hematiile sunt de numărare prin metoda hemocitometrică. Sângele este diluat 1: 100 sau 1: 200, folosind solutia Hayem, atunci eritrocitele sunt numărate în camera Burker-Turk (o lamelă de acoperire este plasată mai întâi pe rețeaua de numărare).

ET se calculează conform formulei: ET / µL = n * 5 * 10 * 200 = n * 10000 (dacă sângele a fost diluat 1: 200), n = eritrocite numărate în 5 pătrate de oridinul doi.

Aparatele de tip Coulter numără hematiile pe baza principului impedanței electrice. Aceste aparate recunosc hematiile pe baza curbelor de tensiune, practic în funcție de dimensiunea celulei. Aceasta este motivul pentru care la specii cu trombocite mari și hematii mici, cum ar fi pisicile, multe plachete sunt recunoscute ca hematii (29). Citometrele de flux de tip ADVIA pot diferenția cu exactitate hematiile de trombocite, deoarece acestea pot măsura nu numai dimensiunea celulei, ci și conținutul de hemoglobină (8).

Indicii eritrocitari sunt valori utilizate pentru caracterizarea eritrocitelor în funcție de mărime și de încărcare cu hemoglobină. Ele sunt frecvent utilizate pentru caracterizarea anemiei. Ele sunt *volumului eritrocitar mediu* (VEM) - volumul unui eritrocit mediu exprimat în femtolitri (fL), *hemoglobina eritrocitară medie* (HEM) - hemoglobina medie conținută într-un eritrocit exprimat în picograme (pg), iar *concentrația hemoglobinei eritrocitare medii* (CHEM) - exprimă concentrația de

hemoglobină raportată la masa eritrocitelor, este exprimată în g / L sau g / dL (la fel ca HGB) CHEM este întotdeauna mai mare decât hemoglobina.

Atunci când s-a descris inițial acești indici au fost calculați pe baza a trei valori determinate manual: HCT, HGB și ET. Formulele sunt detaliate mai jos:

VEM = HCT / ET x 10;

HEM = HGB / ET x 10;

CHEM = HGB / HCT x 100.

Atunci când rezultatele sunt furnizate de aparatele automate, valorile măsurate sunt ET, HGB și VEM (dispozitivul măsoară dimensiunea fiecărei hemati și apoi se calculează media). Valorile calculate sunt HCT (pe baza VEM si ET conta), HEM (bazat pe HGB și ET) și CHEM (pe baza HGB și HCT) (25, 29).

Indicele de anizocitoză (RDW) (*Red blood cells Deviation Width* engl): reprezintă variația volumului eritrocitelor (exprimat în % sau fL), se calculează pe baza VEM și deviația standard a VEM-ului. Metoda nu poate fi determinată prin metode manuale, ci numai de aparatele automate care măsoară volumul fiecărei celule, atunci ele pot calcula media (VEM) și deviația standard (21, 30).

Aparatele de tip ADVIA ce determină HGB pe baza dispersiei luminii (a se vedea determinarea hemoglobinei) pot măsura hemoglobina din fiecare celulă, de aceea aceste dispozitive pot furniza date suplimentare cum ar fi *concentrația hemoglobinei corpusculare medii* (CHCM). CHCM este media concentrației hemoglobinei din hematii în raport cu volumul total. Este, de

fapt, la fel ca și CHEM, dar fără a cuantifica hemoglobina extra eritrocitară și nici nu interferează cu absorbția nespecifică a luminii, deci nu este afectat de hipercolesterolemie și hemoliză care induc creșterea în mod fals în CHEM-lui, dar nu și în CHCM. Cu toate acestea, corpusculi Hentz cresc atât CHEM cât și CHCM. *Hemoglobina eritrocitară* (HC) este aceeași ca HEM, dar calculată prin metoda descrisă anterior. În plus, aceste aparate pot calcula și *indicele de anisocromie* intr-un mod similar cu indicele de anizocitoză, respectiv pe baza HC și deviația standard a HC (% sau pg) (8).

Eritrocitele nucleate (EN) pot fi numărate prin metode manuale si automate. Pentru a stabili numărul de nET, acestea sunt identificate pe frotiul de sânge si a raportat ca nET / 100 leucocite, apoi bazat pe leucocitelor totale numărate se poate calcula EN / μL (29).

Reticulocitele sunt hematii imature care încă mențin ribozomi și prin urmare mai au unele resturi ARN în citoplasmă. Ele rămân approx 24 h în circulație. Atunci când sunt expuse la anumite colorații, ARN-ul formează agregate granulare sau filamente numite reticulului. Determinarea numărului de reticulocite este cea mai utilă la câini și pisici, și are unele aplicații la bovine. La bovine, în mod normal nu apar reticulocite, dar ele pot apărea în cazul unor anemii intens regenerative. Nu se utilizează la cai, deoarece, la cai, măduva osoasă aproape nu eliberează niciodată în circulație reticulocite. Pisicile au două tipuri de reticulocite, reticulocite agregate (similare cu cele găsite în alte specii, aceastea pierd reticulul în 12 ore), și reticulocite punctate, care rezultă din cele anterioare (celulele care conțin granule mici și au devenit eritrocite în 12 zile). Cele mai relevante sunt reticulocite agregate ca și indicator de regenerare. (15, 29).

Valorile pot fi exprimate, atât în procente raportat la numărul total de hematii , cât și nr de reticulocite / µl.:

(1) *Procentul de reticulocite* (PR) - reprezintă procentul (%) de reticulocite pe ET.

(2) *Concentrația reticulocitară* (CR) - reprezintă numărul de reticulocite per µl sau L de sânge. Este cea mai exactă valoare pentru a evalua răspunsul măduvei osoase. Concentraţia reticulocitară pate fi un parametru determinat de unele aparate, sau poate fi calculată. Calculul poate fi realizată cu formula:

Hematii / µl x % de reticulocite = numărul de reticulocite / µl

(3) *Procentul de reticulocite corectat* (PRC) - reprezintă procentul de reticulocite exprimat nu la numărul real de hematii (ET), ci la valoarea normală a speciei. În cazul în care un animal este extrem de anemic, procentul de reticulocite nu reflectă activitatea de regenerare a măduvei osoase, deoarece procentul poate fi mărit, datorită numărului redus de ET, în timp ce a CR rămâne neschimbată.

CRP = RP x (HCT pacient/ normală medie HCT normal mediu) (21, 25, 29).

Tehnici manuale Tehnicile de colorare ale reticolocitelor sunt numite și colorații vitale, deoarece celulele sunt încă în viață când acestea sunt colorate. Pentru aceasta se amestecă volume egal de sânge și soluție de colorare izotonă și se păstrează la temperatura camerei. Cei mai folosiți coloranți vitali sunt Albastru de Metilen și Albastu Brilinat de Crezil. După etalare frotiul se usucă și se examinează la microscop. Reticulocite apar ca hematii mari, colorate într-o nuanță albastruie, cu granule violet albăstrui

inchise sau filamente, în timp ce hematiile mature apar verde uniform albăstrui. Reticulocitele sunt numărate și exprimate la 1000 de hematii (25, 29).

Tehnici automate Analizoarele de pe bază de impedanță nu pot distinge între hematii și reticulocite, dar reticulocitoza (creșterea numărului de reticolocite) este sugerată de creșterea indicelui de anizocitoză, și, uneori a VEM-lui, cu o scăderea CHEM, deoarece reticolocitele sunt mai mari și mai puțin intens colorate decât hematiile mature. Aparatele ce fac *analiza cantitativă microhematocritului* pot estima procentul de reticulocite prin determinarea grosimii celulelor fluorescente ARN din partea superioară a stratului de hematii. *Citometrele de flux* pot cuantifica numărul de reticulocite diferite metode: (a) dispersia specifică a luminii creată de ARNr (b) colorarea fluorescentă a ARNr (tiazol) sau colorare cu alte cromogeni (oazină 750), apoi se identifică celule fluorescente (8, 21, 29).

Viteza de sedimentare a hematiilor (VSH) nu este specifică, dar este utilizată ca un indicator al inflamației sau leziunii tisulare. VSH se bazează pe procesul de sedimentare a hematiilor în partea de jos a coloanei de sânge. Pentru a efectua manual VSH o probă de sânge anticoagulat este plasată într-un tub calibrat la dimensiuni standard și plasat într-o poziție verticală. La final, lungimea coloane de plasma (de la semnul zero) se măsoară în mm.

Factorii care afectează VSH: 1) proprietăți ale plasmei, 2), proprietăți ale eritrocitelor și 3), factorii tehnici (8).

1) *Proteinele plasmatice* - în mod normal hematiile suspendate formează puține agregate. Prin urmare, masa hematiilor este mică, iar rata de sedimentare este lent. Dacă hematiile formează agregate numite roulouri, sau

grupuri de celule sunt mai grele decât celulele singulare și vor sedimenta mai repede. Formarea roulourilor este indusă de niveluri crescute de proteine inflamatorii, cum ar fi fibrinogenul și alte proteine de fază acută. Formarea de agregate eritrocitare apare ca urmare a anticorpilor anti eritrocitari ce se formează în anemiile hemolitice autoimune.

2) *Factorii eritrocitari* - sunt dimensiunea, forma și numărul. Celulele mari sedimente mai rapid decât celulele mici, deoarece sunt mai grele. Sferocitele au VSH lent deoarece acestea sunt în imposibilitatea de a forma rulouri. VSH-ul crește în anemie și scad în policitemie, prin urmare, HCT trebuie verificată la probele care au niveluri ridicate ale VSH pentru a vedea daca VSH se datorează inflamaţiei sau anemie.

3) *Factorii tehnici* (de fapt erori posibile) sunt timpul petrecut între prelevarea de probe de sânge și determinare (mai mult de 2 ore), temperatura (altele decât între 20°C-25°C), vibrații și înclinarea tubului (8).

Metoda Westergreen - se realizează cu ajutorul tubului Westergreen, aceasta este o metodă precisă și necesită predilutie sângelui cu citrat de sodiu (3: 1). Fiola este depusă cu sânge până la semn, decât se introduce în flaconul cu o mișcare de răsucire tubul Westergren până când tubul ajunge la baza flaconului. Coloana de sânge va fi în mod automat la zero, iar sângele în exces se va revărsa într-un rezervor etanș. Tubul ce conține flaconul, este plasată în suportul de sedimentare, iar distanța la care eritrocitele au căzut măsoară folosind gradația de pe tub (8).

VSH normală la **cal** (18):
15 '18 ± 0,5 mm, 30' 49 ± 1,4 mm, 1 h 89 ± 15 mm, 2h 118 ± 1,0 mm,

VSH normală la alte specii de animale domestice (18):

	Vacă	**pisică**	**câine**	**șobolan**
1 oră	1,2 mm	2 mm	4 mm	3 mm
2 ore	2 mm	4 mm	10 mm	5 mm

2.2. Eritropoeza și fiziologia dinamicii eritrocitare

Generarea eritrocitelor începe cu *celule stem hematopoetice multipotente* care generează *progenitorul comun mieloid* comune care se diferențiază în continuare în *progenitorul comun megacariocitar-eritroid*. Există și autori ce afirma că acest progenitor comun ME nu provine din progenitorul comun mielod ci direct dintr-o subpopolație a celulelor stem hematopoetice (30).

Eritropoietina este esențială pentru geneza eritrocitelor, ea stimulează replicarea tuturor celulelor blastice pe linia eritrocitară. La adulți, eritropoetină este sintetizată mai ales în rinichi, de către celulele interstițiale peritubulare renal este ca răspuns la hipoxie (20, 30).

Generarea eritrocitelor începe cu pe cu care formează *unități formatoare de colonii eritroide* (celule ce nu au morfologie distinctă, dar pot fi diferențiate pe baza markerilor de diferențiere) care se diferențiază ulterior în celule care pot fi recunoscute ca progenitoare eritroide (30).

Nomenclatura precursorilor eritrocitari la oameni este diferită de cea utilizată în medicina veterinară. În *medicina veterinară* precursorii eritroizi sunt *rubriblastul, prorubicitul, rubicitul bazofil, rubicitul policromatofil* și

metarubicitul (30). În *medicina umană* acestea sunt *proeritroblastul, eritroblastul bazofil, eritroblastul polichromatofil*, și *eritroblastul otocrom* (25).

In acest ultim stadiu nucleul *metarubicitului* este expulzat rezultând un *reticulocit*. Expulzarea nucleului reduce activitatea enzimelor și deteriorează mitocondria, astfel, glicoliza anaerobă va înlocui respirația aerobă în hematiile mature. Durata de viață a hematiilor variază între 150 de zile de la bovine și cabaline, 100 de zile de la câini și 70 de zile de la pisici. Hematiile vechi a devin mai puțin deformabile și nu se mai pot strecura prin sinusuri vasculare splenice, fiind reținute și îndepărtate de către macrofage locale. In plus, hematiile senescente expune antigene de care se leagă anticorpi specifici care mediază fagocitoza hematiilor. Splina nu numai că elimina hematiile uzate, dar este și un rezervor important pentru hematii (28).

Metabolismului bilirubinei

In mod normal, distrugerea hematiilor are loc mai ales în splină, dar și în ficat și măduva osoasă. Hemul intracelular este oxidat la *biliverdină,* care este imediat redusă la *bilirubină*. Bilirubina este eliberată și legat de albumina serică - *bilirubină neconjugată*. Metabolizarea bilirubinei implică conjugarea cu una sau două molecule de acid glucuronic și excreția de glucuronoconjugați hidrosolubili nontoxici (*bilirubină conjugată*) în bilă. Bilirubina conjugată este apoi deconjugată în lumenul intestinal de bacterii și degradată la *urobilinogen*. Urobilinogenul este în mare parte excretat în fecale (responsabil pentru culoarea maro normală a fecalelor). Aproximativ 20% din urobilinogen format este reabsorbite în ileon și colon, a revenit la

ficat, și re-excretat în bilă. O cantitate mică din urobilinogenul reabsoarbit este excretat în urină (2, 7, 21).

Concentrația plasmatică normală este de aproximativ 2 mmol /L (un pic mai mare la rumegătoare), dar la cai poate fi de până la 50 μmol /L (a crescut în mod semnificativ când nu mănâncă).Prin metode de laborator se poate determina *bilirubină plasmatică totală* (BT) (reprezintă valoarea totală a bilirubinei în plasmă) și *bilirubina directă* (BD) (*conjugată* sau *non legat de albumină*). *Bilirubina indirectă* (BI) (*neconjugată* sau *legată de albumină*) se calculează conform formulei BI = BT – BD (15, 17, 21).

Atât BD cât și BI se pot acumula sistemic, dar ele au efecte diferite. BI este aproape insolubilă în apă și este transportat în complexe cu albumină serică. Acest complex nu poate fi excretată în urină, deoarece albumina este prea mare pentru a trece glomerul. In mod normal, o cantitate foarte mică de bilirubină neconjugată nelegată este prezentă în plasmă. În cazul în care concentrația sa este mai mare, această fracțiune de bilirubina neconjugată nelegată poate difuza în țesuturi (datorită liposolubilitatății sale), și are efecte toxice. BI poate crește în producția extrahepatice excesivă a bilirubinei (*icter hemolitic*); sau absorbția hepatocitară și conjugarea alterată (*icter hepatic*). In contrast, BD (bilirubina conjugata) este solubilă în apă, non-toxică, si nu se atașează de albumină. Astfel, excesul de bilirubina conjugată poate fi excretat în urină. Aceasta are loc în excreție hepatocelulară scăzută în canalele biliare când secreția biliară este eliberată în capilarele sanguine (*icter hepatic*) și în afectarea fluxului de bilă (*icter mecanic*) (15, 17, 21).

2.3. Anemia

Anemia poate fi definită ca o *reducere a masei eritrocitare sub limitele normale*. Anemia are ca urmare o reducere a capacității de transport de oxigen a sângelui, ceea ce duce la *hipoxie tisulară* (2, 21, 22).

În practică, anemia este de obicei diagnosticată pe baza unei *reduceri a hematocritului (HCT) (%)* (29), dar pentru caracterizarea anemiei sunt necesare cunoașterea concentrației de hemoglobină din sânge (HGB) (g/dl) și numărului total de hematii din sânge (ET) (celule / µl), la niveluri care se situează sub limitele normale (16, 21).

Anemia este un sindrom, consecință a unei boli subadiacente care a produs distrugerea eritrocitelor, pierderea eritrocitelor prin hemoragie / hemoliză, scăderea producției de eritrocite, sau o combinație a acestor situații. Oricare ar fi cauza, atunci când anemia este suficient de severă se manifestă prin diferite semne clinice. Simptomatologia este legată de *oxigenare scăzută a țesuturilor* și/sau *activarea mecanismele compensatorii* și pot include: *mucoase palide*, letargie, *reducerea toleranței la efort*, *creșterea frecvenței cardiace* (2, 7, 20). Semnele clinice specifice asociate cu distrugerea eritrocitelor (hemoliza) includ *splenomegalie*, *icter* și urina pigmentată datorită *hemoglobinuriei* sau *bilirubinuriei*. Semne clinice nespecifice, pot fi întâlnite în cazul în care animalul are anemie datorită altor boli sistemice sau care nu sunt asociate cu anemia, iar acestea includ anorexie, febra, limfadenopatie etc. Hipoxia poate provoca degenerescență grasă în ficat, miocard și rinichi. În cazul pierderilor acute de sânge și șoc poate să apară oliguria și anuria ca urmare a hipoperfuziei (2, 7, 20).

Criterii de clasificare a anemiilor

Diagnosticul de anemie nu este suficient pentru o terapie adecvată, stabilirea de etiologiei este esențială pentru un protocol terapeutic corespunzător. Anemiile se pot clasica în funcție de (28, 29):

(1) VEM și CHEM

(2) Răspunsul medular

(3) Mecanismul fiziopatologic de inducere

(1) Volumul eritrocitar și concentrația de hemoglobină eritrocitară medie

Anemiile sunt clasificate în funcție de *volumul eritrocitar mediu* (VEM) și *concentrația hemoglobinei eritrocitare medii* (CHEM). În funcție de VEM anemiilor poate fi *normocitare*, *microcitare* sau *macrocitare*; în funcție de gradul de CHEM - *normocromă* sau *hipocromă* (anemie hipercromie nu există, însă CHEM fals crescut apare în hemoliza intravasculară, hiperlipemie și datorită prezenței corpilor Heintz) (17, 21, 25, 29).

Stabilirea tipului de anemie, departe de a fi un "capriciu" reprezintă un prim pas in elaborarea diagnosticului etiologic. De exemplu, *anemiile microcitare* (și uneori, hipocrome când afecțiunea este foarte severă) sunt cauzate de tulburări ale sintezei hemoglobinei (cel mai adesea datorită deficitului de fier) (29); anemiile microcitare sunt prezente și în șunturile porto-sistemice generate de hipertensiune portală la câini și pisici (28).

Anemiile macrocitare, normocrome (posibil hipocrome) sunt un semn de anemie regenerativă, deoarece hematiile mai tinere sunt mai mari, dar cu o concentrație a hemoglobinei mai mică. De asemenea, acesta se asociază cu

creșterea indicelui de anizocitoză. La pisici, anemii macrocitare neregenerative apar in mielodisplazii generate de infecții cu Fe-LV. Mai multe rase de câini pot suferi de macrocitoză ereditară (Pudel), sau stomatocitoză cu macrocitoză (Malamut, Drentse Patrijshound, Schnauzer pitic) (28, 30).

La om amemiile macrocitare sunt asociate cu deficitul acid folic și vitamina B12 (primar, dar cel mai frecvent secundar în gastrita cronică și pancreatită) (25), dar aceasta nu apare la animale.

Anemiile normocitare, normocrome au diverse etiologii (insuficiență renală cronică, ciroză, mielodisplazi, anemie în boli inflamatorii cronice)

În unele dintre aceste anemii, apariția anomaliilor specifice ale formei hematiilor (apreciată cel mai bine prin examinarea frotiurilor periferice) oferă un indiciu important cu privire la cauza anemiei (28).

(2) Răspunsul medular

Anemiile sunt clasificate ca *regenerative* sau *nonregenerative* pe baza numărului de *reticulocite* circulante (eritrocite imature).

Creșteri ale concentrației absolute a reticulocitelor indică o anemie regenerativă, cu cauza extra-medulară (hemoragie sau hemoliză). Reticulocitoză este mai intensă în cazul hemolizei decât în anemiile post-hemoragice. Reticulocitoză apare după 48-72 ore, (2-3 zile) după apariția anemiei, cu intensitatea maximă la 7 zile. Răspunsul cel mai prompt se întâlnește la câini și porci, pisicile au o reactivitate intermediară, iar reactivitatea cea mai tardivă se observă la bovine.

Valoare normală se referă la numărul de reticulocite al unui individ care nu este anemic. *O valoare "normală" la un pacient anemic nu mai este normală*, și este un semn de *anemie neregenerativă.*

(3) Mecanismul fiziopatologic de producere

Anemia regenerativă este cauzată de hemoragie sau hemoliză. Hemoragia poate fi internă sau externă, acută sau cronică. Hemoragia acută poate avea următoarele etiologii: traumatism, ruptura vasculară, diverse tulburări de coagulare (trombocitopenie, intoxicații cu warfarină, coagulopatie vasculară). Pierderea cronică de sânge se poate datora ulcerelor sau tumorilor, localizate în principal în tractul digestiv, sau infestarea cu paraziți hematofagi (28, 30).

Hemoliza poate fi intravasculară sau extravascular, aceasta poate fi cauzată de creșterea fragilității hematiilor (din cauze ereditare, nutriționale), infecții (Babesia spp., mycoplasma), mecanism mediat imun. Hemoliza extravasculară apare în splină sau ficat, unde eritrocitele sunt fagocitate intens de către macrofage.

Anemia neregenerativă (datorită scăderii eritropoezei) este clasificată în funcție de afectarea sau nu a de numărului neutrofilelor și a trombocite, precum în funcție de severitatea reducerii eritropoiezei. Producția diminuată de hematii poate fi cauzată de o tulburare medulară intrinsecă (primară), cum îi mielofibroza, mielodisplazia, sau o tulburare extrinsecă (secundară). Tulburările secundare includ deficiențe nutriționale, boli renale cronice, tulburări endocrine (hipotiroidism), boli inflamatorii cronice, agenți infectioși, distrugerea imun mediată a precursorilor eritrocitare și substanțe toxice (28, 30).

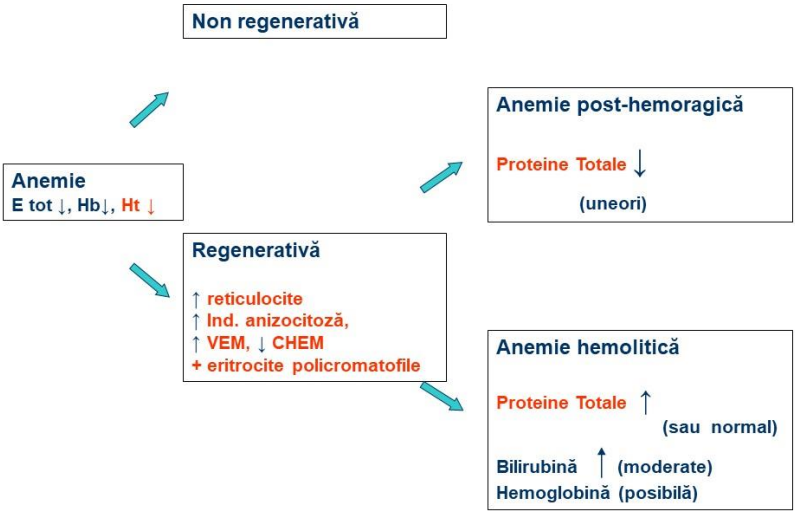


Fig. 2.1. Clasificarea anemiilor

Anemia este clasificată ca regenerativă sau neregenerativă, pe baza răspunsului medular. Criteriile utilizate pentru evaluarea potențialului de regenerare a măduvei osoase includ *numărul de reticulocite, modificări specifice ale indicilor eritrocitari* și *policromatofilia*. Anemia regenerativa este cauzata de hemoragie sau hemoliza. Hemoliza poate fi de obicei extravasculară, dar poate fi și intravasculară.

2.3.1. Anemii regenerative

2.3.1.1. Anemii datorate pierderilor de sânge

Hemoragia acută

Efectele pierderii acute de sânge se datorează în principal pierderii volumului intravascular (hipovolemie), care, dacă este masivă (30-40% din volumul total de sânge, cantitatea de sânge fiind de aproximativ 8% din totalul greutății corporale) poate duce la șoc hipovolemic, colaps cardiovascular și moarte. Caracteristicile clinice depind de rata hemoragiei și dacă sângerarea este externă sau internă. Dacă pacientul supraviețuiește, volumul sanguin este restabilit rapid prin trecerea intravasculară a apei din compartimentul interstițial. Această schimbare de fluid duce la *hemodiluție și o scădere a hematocritului*. Reducerea oxigenarii tisulare declanșează secreție crescută de eritropoietină la nivel renal, care stimulează proliferarea precursilor eritrocitari în măduva. Concentrația proteinele plasmatice revine la normal *în 7 zile*, în cazul în care hemoragia se oprește. Este nevoie de aproximativ *3 zile* pentru maturarea precursorilor eritrocitari și să apară reticulocitelor în sângele a periferic. Fierul din hemoglobină este recapturat în cazul hemoragiilor interne, în timp ce hemoragia externă (la nivel gastro-intestinal, pulmonar, urinar, cutanat) duce la pierderea de fier și poate să apară un deficit de fier, care poate împiedica restabilirea numărului normal de hematii (7, 20).

Hemoragiile masive se soldează și cu reducerea numărului de leucocite și trombocite, dar, de obicei, pierdere de sânge nu determină *scăderea numărului de trombocite sub 100 x10^3/µl* (valorile normale sunt între 200-500 x10^3). Trombocitopenia poate duce la sângerare atunci când numărul trombocitelor scădere sub 25-30 x10^3/µl. În cazul în care sângerarea este suficient de masivă pentru a provoca o scădere a tensiunii arteriale, eliberarea compensatorie a hormonilor adrenergici mobilizează granulocitele din rezerva periferică și *rezultă leucocitoza* (15, 29).

Inițial, în primele 3 zile, hematiile apar normale din punct de vedere al dimensiunii și încărcării cu hemoglobină (anemia normocromă, normocitară) (29). Cu creșterea producției hematiilor la nivel medular există o creștere remarcabilă a numărului de reticulocite (reticulocitoză), care poate să ajungă la 10% până la 15% după 7 zile. Reticulocitele sunt mai mari decât hematiile normale (macrocite) și au o citoplasmă policromatofilă. Ele formează o populație de celule mari (cunocute și sub numele de celule policromatofile viyibile pe frotiul colorat cu coloraţii uzuale), care crește indicele anizocitoză (RDW). Recuperare timpurie după pierderea de sânge este, de asemenea, de multe ori însoțită de trombocitoză, care rezultă dintr-o creștere a producției de trombocite (15, 29).

Hemoragia cronică

Pierderea de sânge cronică induce anemie numai atunci când rata de pierdere depășește capacitatea de regenerare a măduvei sau când rezervele de fier sunt epuizate și apare un deficit de fier; de fapt, la adulți anemia feriprivă este aproape întotdeauna din cauza pierderii de sânge cronice. Atunci când

pierderea de sânge este în curs de desfășurare, rezervele de fier sunt epuizate relativ rapid (21, 23).

Cauzele pierderii de sânge cronice sunt hemoragiile externe cauzate de ulcere gastro-intestinale, tumori, paraziți hematofagi, boala inflamatorie a intestinului, etc.

Anemia feriprivă se caracterizează prin eritrocite mici (uneori, hipocromie atunci când starea este foarte severă, dar, de obicei, valoarea CHEM-ului este normală). Creșterea indicelui de anizocitoză apare deoarece eritrocitele mici coexistă cu eritrocitele normale. În procent de 50% trombocitoza se produce, probabil, din cauza creșterii producției de citokine. Hipoproteinemie este și ea prezentă uneori. La început, anemia este de regenerativă (număr crescut de reticulocite), dar în stadiile tardive poate deveni neregenerativă (29). Alte modificări frecvente includ scăderea sideremiei (concentrația de fier seric), scăderea transferinei (28).

Un tip particlar de anemia hemoragică este cea din hemangiosarcom, întâlnit la câini. Ele sunt tumori vasculare maligne localizate în splină, ficat sau atriul drept, de obicei cu metastaze în plămâni. Aici au loc hemoragiii repetate, după care animalul își revine, în general fără epuizare medulară deoarece au loc hemoragii interne fără pierdere eritrocitară. În aceste cazuri caracteristicile hemorgiilor acute și cronice pot interfera. Mulți câini mor din cauza unei rupturi vasculare cu hemoragie în cavitatea abdominală. Hemangiosarcomul mai poate poate fi sugerat de prezența acantocitelor și schistocitelor pe frotiu (18).

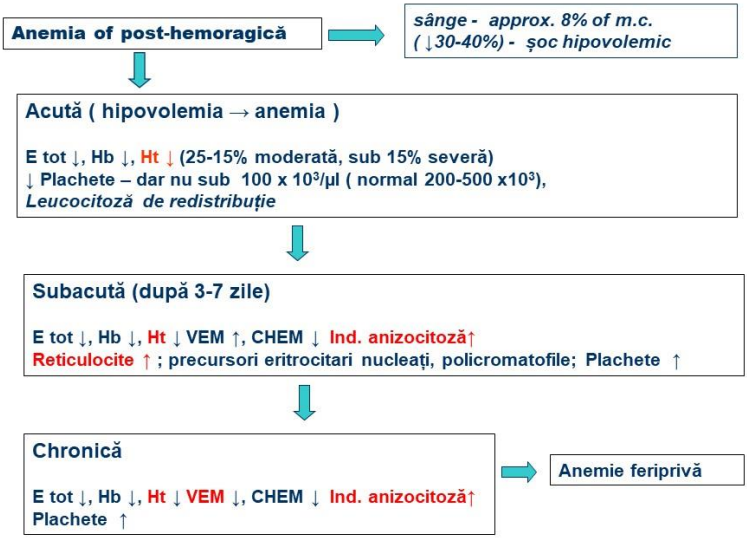

Anemia of post-hemoragică
sânge - approx. 8% of m.c.
(↓30-40%) - șoc hipovolemic
Acută (hipovolemia → anemia)
E tot ↓, Hb ↓, Ht ↓ (25-15% moderată, sub 15% severă)
↓ Plachete – dar nu sub 100 x 10³/µl (normal 200-500 x10³),
Leucocitoză de redistribuție
Subacută (după 3-7 zile)
E tot ↓, Hb ↓, Ht ↓ VEM ↑, CHEM ↓ Ind. anizocitoză↑
Reticulocite ↑ ; precursori eritrocitari nucleați, policromatofile; Plachete ↑
Chronică
E tot ↓, Hb ↓, Ht ↓ VEM ↓, CHEM ↓ Ind. anizocitoză↑
Plachete ↑
Anemie feriprivă

Fig. 2.2. Stadiile anemiei post-hemoragice

Inițial, hemoragia are ca și efect hipovolemia. Anemia apare în urma restituției volemice Deplasarea fluidului interstițial în patul vascular are ca rezultat hemodiluția cu scăderea proteinemiei și anemie. În stadiul subacut, în urma stimulării hematopoeziei, apar semenele regenerării medulare inclusiv creștrea numărului de reticulocite (reticulocitoză). Pierderea cronică de sânge induce anemie cu deficit de fier.

2.3.1.2. Anemii hemolitice

Anemii hemolitice au următoarele caracteristici: *distrugerea prematură a hematiilor* și o creștere compensatorie a eritropoiezei, acumularea de produși de degradare ale hemoglobinei eliberate de distrugerea hematiilor (30).

Acestea pot fi cauzate de *prezența anticorpilor împotriva eritrocitelor* (anemia hemolitică mediată imun, isoeritroliza neonatală), *paraziți intracelulari* (*Babesia* spp., *Theileria*), *micoplasme hemolitice* (*Mycoplama haemocanis, M. haemofelis* etc.), *virusuri* (virusul anemiei infecțioase ecvine), *intoxicații cu plante* (ceapă, usturoi, varză), *substanțe chimice* (acetaminofen, propilen glicol, zinc, cupru), *deficiențe nutriționale* (deficit de seleniu, hipofosfatemie), *intoxicație cu apă*, *defecte ereditare ale membranei eritrocitare* (sferocitoză ereditară) și *tulburări metabolice ereditare* (deficit de piruvat kinază) (7, 30).

Hemoliza poate avea loc în afara vaselor de sânge urmată de fagocitoza eritrocitelor de către macrofage - *hemoliza extravasculara* sau poate să apară în vasele de sânge - *hemoliza intravasculară*. De fapt, hemoliza poate avea loc în același timp, atât intra și extravascular, dar întotdeauna predomină unul dintre mecanisme (21).

Hemoliza extravasculară este în general cauzată de modificări care afectează membrana hematiilor, o fac mai puțin deformabilă. Din cauza rigidității membranei trecerea prin capilarele splinei se realizează mai greu, ceea ce duce la sechestrarea și fagocitoza hematiilor în splină. Caracteristicile

clinice principale ale hemolizei extravasculara sunt (1) *anemie*, (2) *icter* și uneori (3) *splenomegalie*. O parte din hemoglobină nu se fagocitează, ceea ce duce *la scăderi variabile a haptoglobinei în plasmă*, o α2-globulină care leagă hemoglobina liberă și previne excreția prin urină. Deoarece o mare parte a distrugerii patologice a celulelor roșii are loc în splină, indivizii cu hemoliză extravasculara de multe ori dezvoltă splenomegalie.

Hemoliza intravasculară se manifestă prin (1) *anemie*, (2) *hemoglobinemie*, (3) hemoglobinuria (în cazul hemolizelor masive), (4) hemosiderinurie (în afecţiuni hemolitice cronice) și (5) *icter*. Cantitățile mari de hemoglobină liberă eliberate din hematiile lizate sunt legate prompt de haptoglobină, producând un complex care este eliminat rapid de către fagocitele mononucleare. După ce haptoglobina serică este epuizată, hemoglobina liberă se oxidează, se transformă în methemoglobină, care are culoare maronie. Hemoglobinemie este principala caracteristică a hemolizei intravasculara și se manifesta prin colorarea în roșiu a plasmei, CHEM și MCH crescut, scăderea concentrațiilor serice ale haptoglobinei și hemopexinei.

Hemoglobinurie pot să apară după 12-24 ore de hemoliză, celulele tubulare proximale renale resorb și catabolizează o mare parte a hemoglobinei și methemoglobinei filtrate, dar o parte trece în urină, conferind o culoare roșie-maronie acesteia. Fierul eliberat din hemoglobina se pot acumula în interiorul celulelor tubulare, dând naștere la hemosideroza renală. În același timp, grupări hem derivate din complexele hemoglobina-haptoglobina sunt transformate în bilirubină, ceea ce duce la icter. Spre deosebire de hemoliza extravasculara, nu se observă splenomegalie. Eliberare masiva de hemoglobină la nivel renal poate avea efecte dramatice pentru

funcţia renală, fierul eliberat de hemoglobină, în celulele tubulare renale generează specii reative de oxigen (radical hidroxil generat prin reacţia Fenton), ducând la necroză tubulară şi compromiterea funcţiei renale (2, 7, 21).

Bilirubinemie apare după 8-10 ore de la începutul hemolizei, nivelul bilirubinemiei depinde de capacitatea funcțională a ficatului și rata de hemoliză. Atunci când ficatul funcționează normal, icterul este rareori sever. Bilirubina excesivă excretată de ficat în tractul gastro-intestinal duce la formarea și excreția crescută a urobilinei prin fecale. *Bilirubina neconjugată* (indirectă) este în cantități crescute la început, apoi crește si nivelul bilirubinei conjugate (directe), fiind urmată de bilirubinemie (28).

Se observă anumite modificări în anemiile hemolitice, indiferent de cauza sau de tipul acesteia. Anemia și hipoxia tisulară declanșează producerea de eritropoietina, care stimulează diferențierea precursorilor eritrocitari, ccea ce duce la apariția unui număr crescut de eritroblaștilor în maduvă, chiar și în sângele circulant. Creșterea compensatorie a eritropoezei se manifestă prin reticulocitoză evidentă în sângele periferic, după 3 zile. Fagocitoza hematiilor duce la hemosideroză, cel mai pronunțat în splină, ficat și măduva osoasă. În cazul în care anemia este severă, poate să apară hematopoeză extramedulară în ficat, splină și limfonoduli (7, 21).

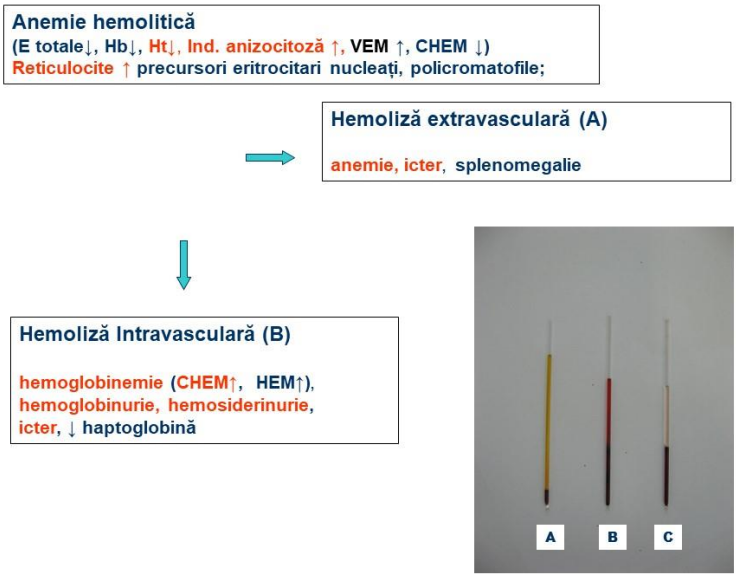


Fig. 2.3. Caracteristicile anemiilor hemolitice

Anemiile hemolitice au următoarele caracteristici: distrugerea prematură a celulelor roșii, o creștere compensatorie a eritropoiezei, acumularea de produse de degradare a hemoglobinei. Hemoliza extravasculară este caracterizată de anemie, hiperbilirubinemie și icter și uneori splenomegalie. Hemoliza intravasculară se manifestă prin anemie, hemoglobinemie, hemoglobinurie și icter. Imaginea reprezintă tuburile de microhematocrit care prezintă icter - plasmă de culoare galbenă (A), hemoglobinemie – plasma de culoare roșie (B) și aspect normal al microhemtocritului (C).

2.3.2. Anemii neregenerative

Anemia neregenerativă se caracterizează prin reducerea eritropoezei (7). Este clasificată în continuare luând în considerare dacă producția neutrofilelor și trombocite este de asemenea afectată. Anemia neregenerativă coroborată cu neutropenie și trombocitopenie este cunoscută sub numele de *pancitopenie*, în timp ce anemia neregenerativă fără afectarea numărului de neutrofile și trombocite este cunoscută sub numele de *hipoplazie/aplazie eritrocitară*. Acesta apare din cauza unor defecte intrinseci ale măduvei sau a factorilor extrinseci care afectează măduva (29).

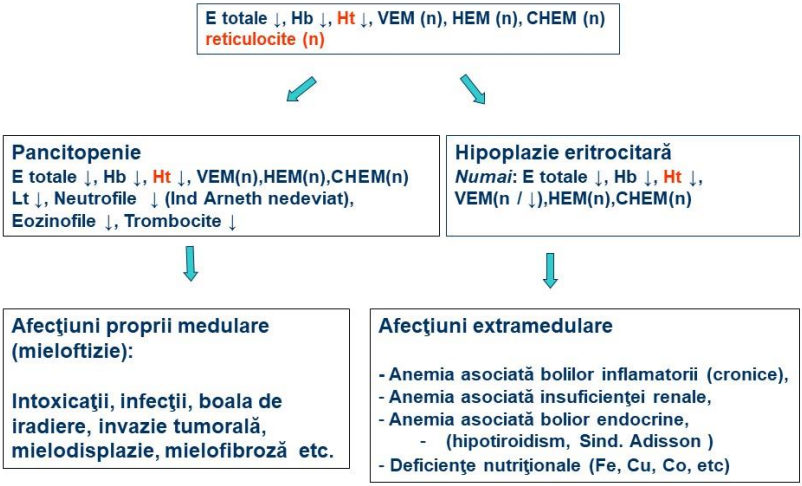

E totale ↓, Hb ↓, Ht ↓, VEM (n), HEM (n), CHEM (n)
reticulocite (n)
Pancitopenie
E totale ↓, Hb ↓, Ht ↓, VEM(n),HEM(n),CHEM(n)
Lt ↓, Neutrofile ↓ (Ind Arneth nedeviat),
Eozinofile ↓, Trombocite ↓
Hipoplazie eritrocitară
Numai: E totale ↓, Hb ↓, Ht ↓,
VEM(n / ↓),HEM(n),CHEM(n)
Afecţiuni proprii medulare (mieloftizie):
Intoxicaţii, infecţii, boala de iradiere, invazie tumorală, mielodisplazie, mielofibroză etc.
Afecţiuni extramedulare
- Anemia asociată bolilor inflamatorii (cronice),
- Anemia asociată insuficienţei renale,
- Anemia asociată bolior endocrine,
- (hipotiroidism, Sind. Adisson)
- Deficienţe nutriţionale (Fe, Cu, Co, etc)

Fig. 2.4. Clasificarea anemiilor non-regenerative

Anemia neregenerativă se caracterizează prin diminuarea eritropoiezei. Acesta este clasificat în funcție de afectarea sau nu a celorlalte elemente sanguine neutrofile și trombocite. Anemia neregenerativă în combinație cu neutropenie și trombocitopenie este cunoscută sub numele de pancitopenie, în timp ce anemia neregenerativă cu neutrofile normale până la creștere și număr de trombocite este cunoscută sub numele de hipoplazie eritrocitară.

2.3.2.1. Pancitopenia aplastică

Pancitopenia este indusă de o gamă largă de medicamente antineoplazice și imunosupresive (doxorubicina, ciclofosfamida, vincristina, hidroxiuree). Alte medicamente responsabile pentru pancitopenie sunt: estrogeni (la câini și dihori domestici), fenilbutazona (câini), griseofulvina (pisici), fenobarbital (câini), albendazol (câine și pisici). Unele virusuri (cum ar fi parvovirusul la câini) au același efect. În toate aceste situații anemia este normocitară și normocromă, asociată cu neutropenie (și indice Arneth deviat spre dreapta) și trombocitopenie (21, 28).

Virusul leucemiei feline induce anemie prin diverse mecanisme, inclusiv anemie aplastică. Se poate manifesta ca hipoplazie eritrocitară, tulburare mieloproliferativă, anemie asociată bolilor inflamatorii și hemoliză (30).

Anemia mieloftizică - *Mieloftizia* este o forma de insuficiență medulară, în care celulele normale sunt înlocuite de celule anormale. Acest fenomen însoțește diferite patologii cum ar fi în cancerul metastatic, procesele infiltrative (de exemplu, boala granulomatoasă) care implică măduva. *Anemia mieloftizică* este, de asemenea, o caracteristică a tulburărilor mieloproliferative. Toate bolile responsabile cauzează o denaturare a măduvei și fibroză, care acționează prin reducerea elementele normale ale măduvei și prin perturbarea mecanismelor care reglementează eliberarea de *hematii și granulocite din măduva*. Acest ultim efect determină eliberarea anormală a precursorilor eritrocitari cu nucleu și forme imature de

granulocite, în sângele periferic, iar apariția *dacriocitelor* (celulelor roșii în formă de lacrimă), care pare că sunt deformate în timpul eliberării din măduva fibrozată (30).

2.3.2.2. Hipoplazia eritrocitară

Această formă de anemie apare în urma diverselor patologii (inflamații cronice, insuficiență renală cronică, boli endocrine, hepatopatii) sau ca urmare a factorilor extrinseci care acționează asupra măduvei hematogene (deficiente nutritionale) (29).

Anemia asociată afecțiunilor cronice

Anemia asociată afecțiunilor cronice (inflamatorii) este frecvent întâlnită la animalele domestice, acesta este asociată cu o reducere a proliferării celulelor precursoare eritroide sau / și afectarea utilizării fierului. Anemia asociată afecțiunilor cronice apare cazul inflamației sistemice persistente și este asociată cu fier seric scăzut, capacitatea scăzută (sau normal) de legare a fierului, concentrație normală (sau crescută) a feritinei serice și creșterea stocării fierului în macrofage sau în măduva osoasă. Este frecvent asociată cu o leucogramă inflamatorie (21).

Paradoxul anemiei bolilor cronice este că concentrația plasmatică de fier este scăzută (datorită mediatorilor inflamatorii), în timp ce depozitele de fier în macrofage sunt crescute, astfel încât anemia rezultă din cauza indisponibilității utilizării fierului pentru producerea precursori eritrocitari. Scăderea fierului seric reduce fierul disponibil pentru dezvoltarea bacteriilor.

În boala inflamatorie cronică, sinteza eritropoietinei este de asemenea scăzută datorită efectului citochinelor inflamatorii (28, 29).

Anemia este de obicei ușoară, iar simptomele dominante sunt cele ale bolii de bază. Este de obicei normocromă și normocitară, dar poate să apară și microcitoza ca în anemia feriprivă. Prezența depozitelor de fier în macrofage și măduvă, un nivel ridicat al feritinei serice, precum și o capacitate de legare totală de fier redusă exclude cu anemia feriprivă (ambele evoluează cu scăderea sideremiei). În acest tip de anemie suplimente de fier nu au efect curativ, doar terapia bolii primare (28, 29).

Anemia în insuficiența renală cronică

Gravitatea anemiei în insuficiență renală cronică tinde să fie proporțională cu gravitatea uremiei. Cauza anemiei în insuficiența renală este multifactorială, dar cauza dominantă este *sinteza redusă a eritropoietinei* de către rinichii deteriorați, ceea ce duce la producerea inadecvată de hematii. Această anemie este moderată până la severă non regenerativă și normocitară. Examenul morfologic al frotiului poate evidenţia prezenţa de eritrocite cu spiculi denumite *celule Burr* sau *echinocite* (21).

Anemia în afecțiuni hepatice

Hepatopatiile, fie toxice sau infecțioase sunt asociate cu anemie datorită scăderii funcției măduvei hematopoetice. Carența de folat și fier cauzate de alimentația necorespunzătoare și hemoragii excesive agravează adesea anemia în această stare. Se observă afectarea precursorilori eritrocitari în mod preferențial; dar poate să apară mai rar și afectarea liniei leucocitare și trombocitare. Anemia este adesea ușor macrocitară, iar eritrocitele prezintă

adesea anomalii morfologice, cum ar fi *acantocitele*, hematii cu crenaţii neragulate şi inegale care îi dau o formă de stea. Ele se datorează modificărilor lipidelor asociate cu insuficiența hepatică, care cauzează defecte membranare (23, 28). Atât acantocitele cât şi echinocitele trebuie diferenţiate de crenelarea artefactuală datorată uscării prea lente a frotiurilor.

Anemia asociată tulburărilor endocrine cronice

Hipotiroidismul este frecvent asociat cu anemie, mai ales la câini. Această anemie este ușoară non regenerativă, normocitară, normocromă și este o manifestare a ratei metabolice scăzută. Terapia se bazează pe terapia de tulburarării endocrine. *Deficitul de glucocorticoizi* (hipoadenocorticismul) de asemena poate fi cauza unei anemii normocitare ușoare (29).

Anemia carențială

Carența de cobalamină

Vitamina B12 este un complex organometalic compus cunoscut sub numele de *cobalamina*. Monogastrice sunt total dependente de aportul alimentar de vitamina B12, în timp ce rumegătoarele pot utiliza microorganismele ruminale pentru sintetiză dacă au la dispoziţie cobalt. Absorbția vitaminei B12 necesită un factor intrinsec, care este secretat de celulele parietale ale mucoasei fundice, în trecut cunoscut ca factorul Castle. Vitamina B12 este eliberată din proteine din produsele alimentare prin *acțiunea pepsinei în stomac* și se leagă de proteinele salivare numite cobalobiline, sau R-lianti. În duoden vitamina B12 legată este eliberată prin

acțiunea *proteazelor pancreatice*. Apoi, *se asociază cu factorul intrinsec*. Acest complex este transportat la ileon, unde este absorbit de enterocite ileale care exprimă *receptori ai factorului intrinsec pe suprafaţa lor*. În celulele ileale, vitamina B12 este legată de o proteină purtătoare majoră, transcobalamina II și este secretată în plasmă. Transcobalamina II transportă vitamina B12 la ficat și alte celule ale corpului, inclusiv celule care proliferează rapid în măduva osoasă și tractul gastro-intestinal (2).

Vitamina B12 și *acidul folic* sunt coenzime necesare pentru sinteza timidinei, una dintre cele patru baze găsite în ADN. *Hiperplazia mădulară*, de unde numele de *anemia megaloblastică,* este un răspuns la concentrația crescută de factori de creștere, cum ar fi eritropoietina. Cu toate acestea, defectul în sinteza ADN-ului determină ca majoritatea precursorilor să sufere apoptoză în măduva - hematopoeză ineficace și asta duce la pancitopenie (30). *La om*, și eritrocitele circulante sunt mari, *anemia macrocitară*, dar acest aspect nu este identificat și în medicina vetrinară (25).

La om, *anemia megaloblastică* se datorează carenței de vitamina B12 precum și *a acidului folic*. Carența de vitamina B12 se se poate datora deficitului nutrițional (dieta exclusiv vegetariană, carnea este principala sursă de vitamina B12), operațiile de baybas gastric, afecțuni cronice gastrice, insuficiență pancreatică etc. Un caz particular este *anemia pernicioasă*, o carență de vit B12 datorată unei inactivări prin mecanism autoimun a factorului intrinsec (2).

Carența de cobalamină este rar întâlnită la *câini* și apare datorită absenței ereditare a receptorilor pentru factorul intrinsec la nivelul în enterocitelor ileale. Afecțiunea a fost descrisă la Schnauzer uriaș și Border colie. Administrarea parenterală, dar nu și administrarea orală de vitamina

B12 elimină toate manifestările. *Carența de acid folic* a fost descrisă la *pisici* (21, 28).

La rumegătoare în anemia datorită carenței de cobalamină, de fapt este o carență de cobalt, din cauza pășunatului pe soluri cu deficit de cobalt (29).

Anemia feriprivă

Carența de fier duce la un tip particular de anemie cunoscut sub numele de *anemia feriprivă*. Carența de fier poate rezulta din (1) aport insuficient, (2) absorbție deficitară, (3) necesitate crescută, (4), pierderi de sânge cronice (7).

Pentru a menține un echilibru normal, fierul trebuie să fie absorbit din dieta zilnică. Biodisponibilitatea fierului din alimente este la fel de important ca și concentrația totală de fier din alimente. Fierul din hem este mult mai ușor absorbit decât fierul anorganic, a cărei absorbție este influențată de alți constituenți alimentari. Absorbția fierului anorganic este sporită de acid ascorbic, acid citric, aminoacizi, zaharuri din dietă, și inhibată de taninuri (prezente în ceai), carbonați, oxalați și fosfați (2, 11).

În medicina veterinară anemia feriprivă din cauza deficitului de aport este destul de rară, fiind frecventă numai la nou-născuți, mai ales la *purcei* (îndeosebi cei crescuți în sistem intesiv) (29).

Pierderea cronica de sânge este de departe, cea mai frecventă cauză a deficitului de fier. *Hemoragie externă* reprezentată de sângerări la nivel gastro-intestinal, urinar, căile genitale sau infestării cu paraziți hematofagi, epuizează destul de rapid rezervele de fier (28).

Indiferent de etiologie, carența de fier produce o *anemie microcitară hipocromă*. La începutul pierderii de sânge cronice sau alte stări cu afectarea

echilibrului fierului negativ, rezervele sub formă de feritină și hemosiderină pot fi suficiente pentru menținere concentrației normale a hemoglobinei și hematocritului precum a sideremiei și a transferinei. Epuizarea progresivă a acestor rezerve scade mai întâi nivelurile serice de fier și de saturație a transferinei fără a produce anemie. În acest stadiu incipient există activitatea crescută de producere a precursorilor eritrocitari în măduva osoasă. Anemia apare numai atunci când rezervele de fier sunt complet epuizate și este însoțită sideremie scăzută (2).

Măduva osoasă relevă o creștere ușoară până la moderată progenitorilor eritrocitari. O constatare semnificativă pentru diagnosticul pozitiv este dispariția rezervelor de fier din macrofagele din măduva osoasă. Pe frotiurile din sângele periferic, celulele roșii sunt mici (microcite) și palide (hipocrome). În deficitul de fier zona centrală de paloare este lărgită, apare poikilocitoza (alterări are formei hematiilor) cu apariția hematiilor mici, alungite (pencil cells). Diagnosticul de anemie feriprivă in cele din urma se bazează pe determinări de laborator. Atât hemoglobina și hematocritul sunt scăzute, de obicei, moderat, asociat cu hipocromie, microcitoză și anizocitoză. *Sideremia* și *concentrația de feritină* sunt scăzute, iar *capacitatea totală de legare a fierului* (care este reflectă de nivelul crescute de transferină) este mare. În deficit de fier fără complicații, suplimentarea orală cu fier produce o creștere a numărului de reticulocite în decurs de câteva zile, care este urmată de o creștere constantă a numărului de hematii și normalizarea indicilor eritroctari (23, 28, 29).

2.4. Policitemia

Policitemia este o creștere a concentrației de eritrocite, cu o creștere corespunzătoare *a hematocritului* și concentrației de hemoglobină (30). Termenul de policitemie presupune creșterea numărului tuturor celulelor sanguine, în timp ce *eritrocitoza se referă doar la creșterea numărului de celule hematii*. Cu toate acestea, nu toți autorii fac această diferență (25).

Policitemia poate fi: *relativă*, (în *hemoconcentrație* din cauza scăderii volumului plasmatic sau *de distribuție a hematiilor*) și *absolută* atunci când există o creștere a masei totale de celule roșii (29).

Policitemia relativă poate avea ca și cauză *hemoconcentrația* sau *redistribuția eritrocitară*. *Hemoconcentrația* apare ca urmare a *deshidratării* severe din cauză privării de apă, vomă sau diaree prelungită, utilizarea excesivă de diureticelor. *Redistribuția eritrocitară* se referă la contracția splenică și apare îndeosebi la animale cu excitabilitate crescută și rezervă splenică considerabilă, cum ar fi pisicile și caii (27, 29).

Policitemia absolută este *primară* atunci când rezultă dintr-o anomalie intrinsecă a precursorilor hematopoietici și *secundară* atunci când precursorii eritrocitari răspund la niveluri crescute de *eritropoetină*. Cea mai frecventa cauza policitemiei primare este *policitemia vera*, o tulburare mieloproliferativă asociată cu mutații care duc la o creștere a masei precursorilor eritrocitari, independentă de eritropoietină. Mai frecventă la om și mai rar întâlnită la animale, dar a fost raportată la câini și pisici în mod excepțional la cai și bovine (25, 30).

Policitemia secundară apare în două situații patologice, când *hipoxemia* declanșează sinteza eritropoietinei și când eritropoietina este produsă în cantități mari *fără hipoxemie*. *Hipoxemia generalizată* și hipoxia apare la animalele care suferă de insuficiență circulatorie și respiratorie cronică. Acesta se manifestă prin scăderea saturației cu oxigen urmată de o concentrație crescută de eritropoietină (2, 7, 28).

Nivelul crescut de eritropoietină fără hipoxemie apare la pacienții cu tumori renale (care pot induce hipoxie renală), sindroame paraneoplazic (tumori extra renale, care secretă eritropoietină sau sbstanță similară cu eritropoietina). Concentrația de eritropoietină este foarte mare iar saturația de oxigen din sânge este normală sau ușor a scăzută (2).

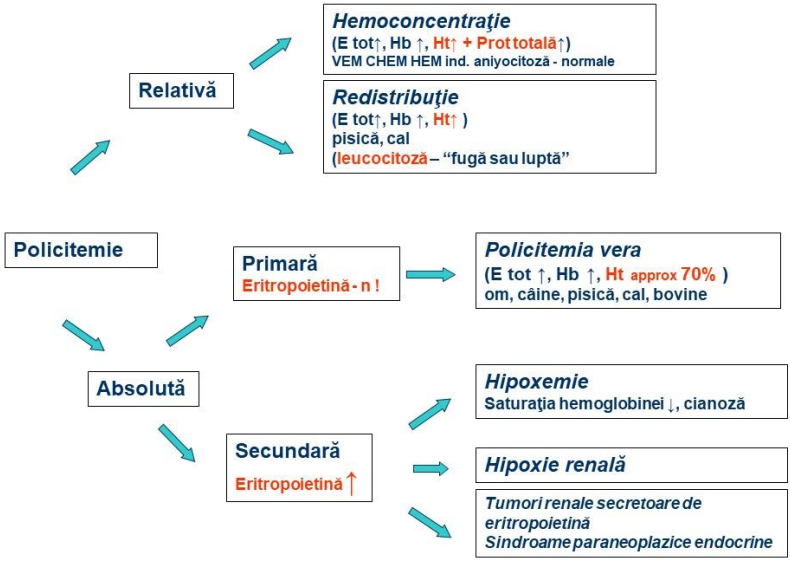


Fig. 2.5. Clasificarea policitemiilor

Policitemia este creșterea concentrației de eritrocite. Policitemia este relativă atunci când se datorează hemoconcentrației datorată hipovolemiei (deshidratare) sau redistribuirii eritrocitelor (contracție splenică) și absolută atunci când există o creștere a masei totale de hematii. Policitemia absolută poate fi cauzată de *policitemia vera* sau poate fi secundară atunci când progenitorii eritroizi răspund la niveluri crescute de eritropoietină.

3. Patologia seriei leucocitare

3.1. Cuantificarea leucocitară

Leucocitele totale (LT) reprezintă numărul de leucocite conținute într-un volum de sânge (exprimat în 10^3 /µL, 10^3 / mm^3 sau 10^9 / L). *Formula leucocitară* reprezintă clasificarea leucocitelor în diferite tipuri (27, 25, 30).

Metode manuale

În mod tradițional *LT* se cuntifică prin metoda hemocitometrică. Sângele este diluat 1:10 sau 1:20, în soluție Turk, (care conține acid acetic 3%, care lizeaza hematiile), astfel încât leucocitele sunt usor de vazut la microscop. Numărarea leucocitelor se face în camera Burker-Turk, în cele patru pătrate de ordinul unu, plasate în colțurilor rețelei. Numărul total de celule este dat de formula: LT /µL = media celulelor numărate x 10 x 20 (10 pentru a transforma rezultatele în celule / µL, iar 20 diluarea sângelui) (8).

Formula leucocitară constă în examinarea leucocitelor și clasificarea celulelor în diferite tipuri în funcție de morfologia celulară. Procedura implică numărarea 100-200 leucocite pe un frotiu din sânge și încadrarea în populațiile leucocitare decelabile morfologic (*neutrofile, eozinofile, bazofile, monocite și limfocite*). Rezultatele sunt exprimate în procente (%), sau, în cazul în care LT este deja cunoscut, pe baza procentului, se calculează concentrația fiecărei categorii (10^3 /µL) (8).

Cuantificarea automată

Analizoarele de impedanță de obicei, procesează sângele în două cuve, una pentru hematii și trombocite (folosind diluanți izotonici) și alta pentru leucocite (utilizează diluenți ce lizeaza celulele si trombocite, numai nucleele rămân). Toate nucleele sunt numărate, astfel, hematiile nucleate nu pot fi diferențiate de leucocite. În plus, unele analizoare cu impedanță nu fac diferența între toate categoriile de leucocite, ci efectuează o diferențiere în funcție de dimensiunea celulei, împărțind leucocitele în granulocite (celule mari), celule medii și limfocite (celule mici). Altele pot diferenția toate cele cinci categorii pe baza unor anumite soluții de colorare pentru eozinofile și bazofile (8, 28).

Analizoarele de flux optice sau cu laser diferențiază leucocitele pe baza complexității nucleare, sau, în cazul aparatelor de tip ADVIA prin diferență în conținutul peroxidază. Ele pot identifica o categorie separată de celule cunoscut sub numele de celule necolorate mari (LUC *Large Unstained Cells* engl.), care sunt celule mari, fără peroxidază cum ar fi eritroblaștii sau diverse alte celule blastice (8, 28).

Analiza cantitativă microhematocritului diferențiază leucocitele în granulocite și limfocite / monocite, pe baza diferenței în fluorescență ADN-ului. La câini și bovine eozinofile sunt detectabile ca o altă categorie bazată pe fluorescență mai mare decât celelalte granulocite (8, 28).

Toate aceste dispozitive cuantifică individual fiecare categorie de celule, apoi le adună pentru a calcula leucocitele totale, iar apoi se calculează procentajul corespunzător. Indiferent de metodă, concentrația absolută a leucocitelor (determinate sau calculate) este mai relevantă decât procentul în interpretarea răspunsului leucocitar (29).

3.2. Generalitati privind fiziologia leucocitelor

Leucocitele se împart în mai multe categorii: *granulocite* (*neutrofile, eozinofile și bazofile*), *limfocite* și *monocite*. Granulocitele și monocitele circulă într-o singură direcție; celulele sunt produse în măduva hematogenă și sunt eliberate în circulația periferică, și după o scurtă perioadă petrecută în sânge acestea trec în țesuturi. Spre deosebire de ele, limfocitele circulă continuu din sângele periferic în țesutul limfoid și înapoi (2).

Originea leucocitelor

Toate celulele sanguine provin dintr-o *celulă stem hematopoietică multipotentă*; care se diferențieză inițial în două tipuri de celule: *precursorul comun mieloid* și *precursorul comun limfoid*. Pe baza originii lor, componentele sistemului hematopoietic au fost împărțite în mod tradițional în *țesuturi mieloide*, care includ măduva osoasă și celulele derivate din acesta (de exemplu, celule roșii, plachetele, granulocitele și monocitele), și *țesuturile limfoide*, constând din timus, limfonodulii și splina (6, 30).

Neutrofilele și monocitele au un progenitor comun *progenitorul granulocitar-macrofagic* (o celulă care nu are o morfologie caracteristică). Etape maturării ale neutrofilelor sunt: *mieloblast, promielocit, mielocit, metamielocit, neutrofil nesegmentat* și *neutrofile segmentate*. Există un factor de stimulare separat (CSF) pentru diferențierea eozinofilelor și bazofilelor, care se maturează trecând prin etape similare cu neutrofilelor (30).

3.3. Interpretarea variațiilor numerice leucocitare

Leucograma reprezintă determinarea numerică și morfologică a profilului de leucocitar (28). Tulburările leucocitelor se pot clasificate în două mari categorii: *leucocitoză* concentrația crescută a leucocitelor, și *leucopenia*, reducerea numărului de leucocite. Proliferări leucocitelor poate fi *reactive* sau *neoplazice*. Acești termeni descriu variația numărului total de leucocite, dar variația categoriilor leucocitare sunt, de asemenea, extrem de semnificative (29).

Cele mai importante variații sunt: *neutropenia* – scăderea numărului de neutrofile, *limfopenia* – scăderea numărului de limfocite, *eozinopenia* – scăderea numărului eozinofile, scăderea numărului de monocite și bazofile nu are semnificație patologică, *neutrofilia* – creșterea numărului de neutrofile, *eozinofilia* – creșterea numărului de eozinofile, *monocitoza* - creșterea numărului de monocite, *limfocitoza*- creșterea numărului de limfocite, *bazofilia* - creșterea numărului de bazofile (21, 28, 29).

Indicele Arneth reprezintă procentul de neutrofile clasificate în funcție de numărul de lobii ai nucleului. Neutrofilele tinere, au nucleu nedivizat, iar cu trecerea timpului nucleul se segmentează și devine multilobat. Procentul crescut de *neutrofile tinere* este cunoscut sub denumirea de deplasare *indicelui Arneth spre stânga*, în timp ce *predominanța neutrofilelor mature* cu nucleu multilobat ca deplasarea *indicelui Arneth la dreapta*. Devierea indicelui Arneth la stânga este de obicei asociată cu procesul inflamator; de obicei evoluează cu neutrofilie. Când este asociat cu neutropenie, indică un consum mai sever a neutrofilelor printr-o leziune inflamatorie mai agresivă. Deplasare indicelui Arneth la dreapta este de obicei asociată cu reducerea

capacității de diapedeză, când rămân mai mult timp în fluxul sanguin, ca efect al cortizolului (23, 27, 28).

Caracteristici și seminificația variațiile leucocitelor

Neutrofilele au citoplasmă fin granulară, granule de culoare roz pal, nucleu nesegmentat sau lobat. Celulele tineri (imature) au un nucleu nelobat, sub formă de bandă (29).

Granulațiile neutrofilelor au diferite funcții, granulele primare au enzime litice puternice și mieloperoxidază. Granulele primare sunt eliberate intracelular după fagocitoza, de asemenea, se eliberează și extracelular și acționează în tesutul din jur. Granulele secundare translocă substanțe la suprafața celulară în timpul migrării și activării neutrofilelor. Neutrofilele au funcția de a îngloba și distruge bacteriile care au penetrat pielea și barierele la nivelul mucoaselor (2, 20, 30).

Neutrofille reprezintă catagoria leucocitară predominantă numeric la majoritatea speciilor de animale, excepție fiind rumegătoarele și rozătoarele. Din această cauză variațiile neutrofilelor au ca urmare aproape întotdeauna și modificarea numărului leucocitelor totale. Modificările numerice ale neutrofilelor vor fi detaliate în următoarele capitole (29).

Eozinofilele au o mare afinitate pentru eozină. Nucleul este de obicei divizat în 2-3 lobi, de culoare mov, ca și în cazul neutrofilelor numărul de lobi crește odată cu vârsta celulei. Citoplasma este de culoare roz și conține granule mari, roșu-portocaliu. Eozinofile reprezintă aproximativ 3% din leucocitele circulante (20). Eliberarea eozinofilelor are loc ca urmare a sintezei / eliberării unor molecule de către *mastocitul activat* dar și de alte leucocite activate în focarul inflamator, sau proteine serice (fracțiunea C3a a

complemetului, eotaxinei, IL-8, IL-5, PAF etc.) (2). Granulele eozinofilelor conțin proteine majore și mieloperoxidaze. Acestea substanțe pot deteriora larvele paraziților care sunt prea mari pentru a fi ingerate de către celulele fagocitare. Ele pot induce de asemenea leziuni tisulare în reacții alergice. Înterpretarea variațiilor numerice ale eozinofilelor trebuie să țină cont de dinamică populației celulare. *Eozinofilia* apare ca urmare a unei sinteze / eliberări intensificate ce are loc în *boli parazitare* și *alergice*, *mastocitom*, traumatisme tisulare și în *proliferări maligne eozinofilice* (leucemia cronică eozinofilică, sindrom hipereozinofilic). *Eosinopenia* apare, acut, ca urmare a consumului intensificat ce depășește inițial capacitatea medualară, infecții bacteriene, toxiemii, traumatisme, sau mai frecvent deficitului de sinteză / eliberarere la nivel medular. Eozinopenia, cu *agranulocitoză* (scăderea globală a leucocitelor granulare) apare în aplazie medulară (intoxicați, invectii virale medulosupresive). Eozinopenia cu limfopenie apare ca răspuns la un nivel ridicat de glucocorticoizi (administrare de corticosteroizi, stres, sindrom Cushing) deorece glucocorticoizii blochează eliberarea medulară a eozinofilelor (15, 21, 29).

Bazofilele sunt albastre cu nucleul este segmentat, de culoare violet. Conține granule mari, bazofile. Ele reprezintă cea mai mică populație leucocitară, rămân în fluxul sanguin timp de doar câteva ore, soarta lor în țesuturi este încă necunoscută. Țesuturile conțin mastocite care seamănă cu bazofilele, ambele tipuri celulare posedă granule negru-albastre, dar mastocitele au un nucleu rotund, nesegmentat. Cu toate că bazofilele circulante nu sunt precursorii mastocitelor tisulare, se pare că provin dintr-o celulă precursoare comună din măduvă. Mastocitele din țesuturi acționează împotriva paraziților și fungilor, ele prezintă receptori pe suprafața

membranară pentru fragmentul Fc al IgE, iar acest lucru oferă un mecanism de concentrare a IgE. Consecința cuplării anticorpului cu antigenul este degranularea mastocitelor; cu eliberarea conținutului din granule, care includ substanțe chemotactice pentru eozinofile. Același mecanism este implicat în reacția de hipersensibilitate de tip I - anafilaxie. Bazofilia este mai puțin frecventă, de obicei însoțește eozinofilia (2, 29).

Monocitele sunt precursorii macrofagelor și a altor celule fagocitare. Au un nucleu mare, oval sau sub formă de potcoavă, citoplasma este de culoare albastru gri, cu vacuole. Rămân doar 24 de ore în circulație, după care ajung în țesutul unde se diferențiează în continuare. Unele supraviețuiesc timp de mai multe zile sau luni (histiocite - macrofage mobile; macrofage fixe - în splină, măduvă osoasă ficat, limfă, alveolare; osteoclaste; celule microgliale). Macrofagele se acumulează la locul inflamației cronice și adesea se diferențiează în continuare pentru a forma celule epiteloide sau celule gigante multinucleate. Macrofagele îndeplinesc diverse funcții importante, cum ar fi: fagocitoza microorganismelor, clearance-ul sângelui, procesarea antigenului pentru a fi prezentate limfocitelor (APC - celule prezentatoare de antigen), și secreția de citokine, cum ar fi IL 1 și TNF. *Monocitoza* are valoare diagnostică scăzută, apare împreună cu neutrofilia în răspunsurile inflamatorii acute și cronice. La câini, monocitoza poate să apară ca o parte a răspunsului la steroizi (2, 12, 13, 29).

Limfocitele pot fi mici sau mari; nucleul este nelobat, rotund sau oval, de culoare violet. Citoplasmă este bazofilă, în cantitate variabilă. Se împart în principal în două clase : limfocite T - implicate în răspunsul imun mediat celular și limfocitele B - participă în răspunsul imun umoral, sunt precursoarele celulelor secretoare de anticorpi -plasmocite. O a treia clasă de

limfocite, limfocitelele NK (natural killer) apar de la linia de celule T într-un stadiu incipient, și nu necesită o condiționare timică. Limfocitele NK acționează fără o sensibilizare prealabilă decătre un antigen (2, 6, 21, 29).

Limfocitoza apare în:

a. *starea de "fugă sau luptă"* – de obicei o creștere moderată, alte categorii de leucocite ar trebui să crească și ele fără modificarea semnificativă a procentelor, limfocitele au morfologie normală

b. *leucemie limfocitară cronică* (LLC)– de obicei numărul crește semnificativ, fără modificarea altor categorii leucocitare prezintă o morfologie normală

c. *ehrlichioză canină* – aspecte similare descrise în leucemie, număr mai mic

d. bovine infectate cu *virusul leucemiei bovine* (BLV) – primul simptom este limfocitoza persistentă, care poate să evolueze cu leucemie limfocitară sau limfom.

Limfopenia este asociată cu neutropenie în administrarea de corticosteroizi sau în infecții virale imunosupresive (28).

3.4. Modificări hematologice asociate cu neutrofilie

Neutrofilia are trei cauze principale:

1. *inflamația* (leucogramă inflamatorie) (cu devierea indicelui Arneth spre stânga),

2. *răspuns de "fugă sau luptă"* (fără devierea indicelui Arneth, limfocite în limite normale sau limfocitoză),

3. *răspuns la cortizol* (cunoscută ca și leucogramă de stres) (indice Arneth nedeviat, limfopenie, eozinopenie) (29).

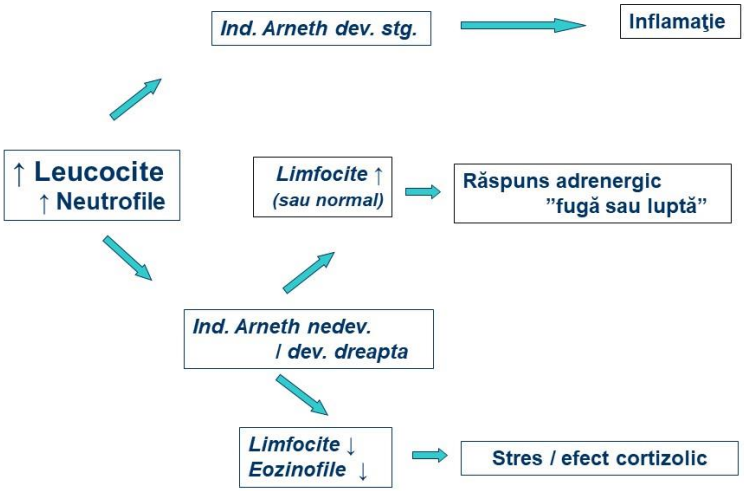


Fig. 3.1. Diagnosticul diferențial al stărilor de leucocitoză cu neutrofilie

Cel mai frecvent, neutrofilia are trei cauze principale: inflamație (atunci când este asociată devierea indicelui Arneth spre stânga), răspunsul de "fugă sau luptă" (indice Arneth normal - fără deplasare la stânga, valori normale ale limfocitelor sau limfocitoză) și răspunsul la cortizolul – leucograma de stres (indice Arneth deviat spre dreapta sau nedeviat, limfopenie, eozinopenie) .

3.4.1. Răspunsul inflamator sistemic

Inflamația deși este un proces local are și efecte sistemice prin mediatorii produși in focarul inflamator. Unul din cele mai importante componente ale răspunsului inflamator sistemic este modificarea tabloului lecocitar. La început, vasodilatația și mediatorii chimici atrag neutrofile din circulație și din țesuturi la nivelul leziunii inflamatorii. În această fază numărul celulelelor circulante poate suferi o scădere dependentă de amploarea fenomenului inflamator și viteza răspunsului medular. Restabilirea și apoi creșterea numărului de leucocite circulante se face in două etape. În prima etapă granulocite mature sunt eliberate rapid din rezervele medulare în fluxul sanguin. În a doua etapă macrofagelor (din zona inflamată) eliberează interleukina-1 (IL-1), factorul de necroză tumorală (TNF), precum și a altor citochine inflamatorii care stimulează măduva osoasă să crească producția de neutrofile (10, 20).

Variația numărului de neutrofile poate varia foarte mult de la neutropenie la neutrofilie dependent de echilibrul dintre producția în măduva hematogenă și a rata consumului în focarul inflamator. O trăsătură comună este devierea indicelui Arneth spre stânga, adică o creștere a numărului de neutrofile unilobate, ceea ce arată o intensificare a eliberării / sintezei de neutrofile la nivel medular. Această deviere la stânga nu trebuie văzută obligatoriu ca un semn al procesului inflamator acut, ea apare și în inflamații cronice. De exemplu în piometru la câini apre o neutrofilie puternică cu devierea indicelui Arneth spre stânga. Rezerva neutrofilică și capacitatea de

proliferare a măduvei hematogene este diferită în funcție de specie. Câinii au măduva hematogenă foarte reactivă, în timp ce rumegătoare au capacitatea de proliferare mai mică; pisicile și cai sunt între ele. Neutropenia cauzată de inflamația acută reprezint o urgență câini. Se întâlnește în infecții severe ca peritonită. Monocitoza poate însoți inflamația acută și cronică, iar aceasta trebuie interpretată ca răspuns la creșterea nevoii de macrofage în țesuturi. Ea nu are o semnificație deosebită (21, 28, 29).

3.4.2. Răspunsul hematologic în reacția de "fugă sau luptă"

Răspunsul de "fugă sau luptă" (*fight or flight* engl.) sau "răspuns de excitație" (*excitement response* engl.) include diferite modificări clinice, biochimice și hematologice, toate datorită eliberării de adrenalină (epinephirine). Efectul principal al adrenalinei este tahicardia, hipertensiunea arterială și, prin urmare, creșterea fluxului sanguin în microcirculație. Acest lucru duce la trecerea leucocitelor din rezervele tisulare în circulație, dublând numărul de neutrofile circulante în câteva minute. Acestă creștere a numărului de leucocite nu modifică formula leucocitară sau indicele Arneth. Este în mod constant însoțit de limfocitoză. Cea mai importantă modificare biochimică este hiperglicemia. Răspunsul de "fugă sau luptă" se întâlnește mai frecvente la pisici (21, 29).

3.4.3. Răspunsul hematologic în stres

Stresul este un răspuns complex al organismul, mediat în principal, de cortizol. Stresul însoțește boli sistemice majore, tulburări metabolice și durere. Un tablou hematologic similar poate fi induse de administrarea de cortizol. Caracteristicile leucogramei de stres sunt: *limfopeni*e, *neutrofilie* (indice Arneth nedeviat), și *eosinopenie*. Steroizii induc apoptoza limfocitelor și modifică recircularea acestora, de asemenea, scad capacitatea de marginație a leucocitelor, astfel încât neutrofilele rămân mai mult în fluxul sanguin. În plus, steroizi împiedică eliberarea eozinofile din măduva osoasă (21, 29).

Un tablou hematologic asemănător, respectiv neutrofilie cu indice Arneth nedeviat, sau deviat spre drepta, apare și în *deficienţa de adeziune leucocitară* (LAD *Leukocytes Adhesion Defficiency- engl*). LAD este o imunodeficință ereditară autosomal recesivă, descrisă inițial în patologia umană, dar în prezent a fost identificată și la câine (Seter Irlandez) și bovine (Holstein). Se datorează unei mutații a genei care codifică o parte din proteina CD18 esențială în procesul de adeziune leucocitară. Prin urmare, leucocitele vor rămâne în circulație, ceea ce duce la creșterea numărului și a gradului de segmentare nucleară a neutrofilelor circulante. Această mutația duce la inhibarea răspunsului chemotactic și compromiterea imunității mediate celular, ceea ce predispune la infecții (9, 24).

3.5. Modificări hematologice associate cu neutropenie

Reducerea numărului de neutrofile, cunoscut sub numele de *neutropenie* este cauza majoră a leucopeniei neutrofilele fiind leucocitele dominante la majoritatea speciilor de animale. *Agranulocitoza* reprezintă scăderea numerică a granulocitelor, categorie ce include pe lângă neutrofile și eozinofilele și bazofilele. Scăderea numărului de neutrofile / granulocite circulante apare în caz de:

- consum crescut
- granulopoeza inadecvată (21)

În sinteză, neutropenia are trei cauze majore, ce pot fi distinse prin modificări hematologice:

1. *inflamația acută* (cu indice Arneth deviat spre stânga, fără modificarea numărului de hematii sau trombocite),
2. *alterări medulare tranzitorii* (fără devierea indicelui Arneth și fără modificarea numărului de hematii sau trombocite),
3. *alterări medulare ireversibile* (sau cronice) (fără devierea indicelui Arneth, anemie neregenerativă, trombocitopenie) (29)

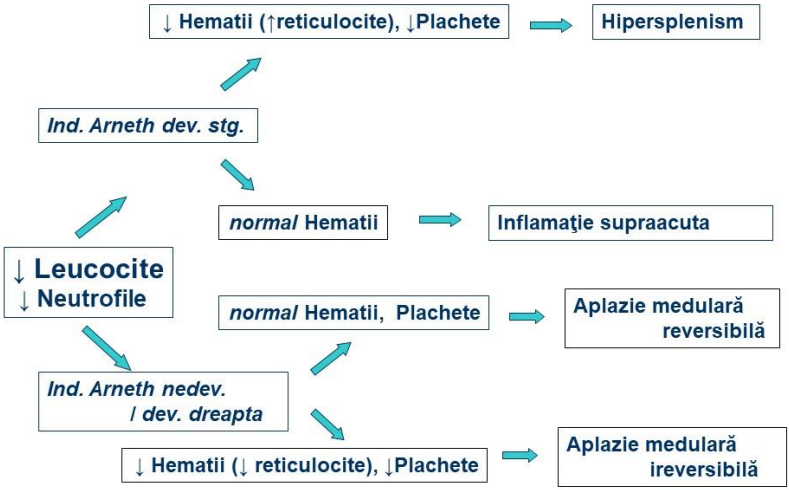


Fig. 3.2. Diagnosticul diferențial al stărilor de leucopenie cu neutropenie

Cel mai frecvent neutropenia are trei cauze principale: hipersplenism, inflamație acută (asociată cu devierea ind. Arneth spre stânga, cu eritrocitele și trombocitele normale), leziuni ale măduvei tranzitorii (indice Arneth normal sau deviat spre dreapta, eritrocite normale și trombocite) și leziuni ireversibile ale celulelor stem (indicele Arneth normal sau deviat spre dreapta, anemie neregenerativă, trombocitopenie)

3.5.1. Consum crescut

Îndepărtarea sau distrugerea accelerată a neutrofilelor apare în:

a. *Distrugerea neutrofilelor în tulburări mediate imun*, care pot fi idiopatice sau tulburări imune bine definite (lupus sistemic), sau ca urmarea administrării unor medicamente

b. *Splenomegalie*, în care sechestrarea splenică duce la distrugerea excesivă, de obicei se asociază cu distrugerea crescută a hematiilor și trombocitelor

c. *Consum periferic crescut*, în infecții grave bacteriene, virale sau micotice (sepsis, șoc septic) (21, 28, 29)

3.5.2. Granulopoeza inadecvată

În leziunile celulelor stem, de obicei, sunt afectate toți precursorii sanguini, nu numai precursorii neutrofilelor. Pentru că neutrofilele au o viață foarte scurtă în circulația sanguină (doar câteva ore), neutropenia apare prima dată în cazul afectării celulelor stem hematopoetice. Neutropenia este urmată de trombocitopenie, deoarece plachetele au o durată de viață de 7 zile, iar anemia apare numai în cele din urmă, deoarece eritrocitele au cea mai lungă durată de viață (30).

Alterările medulare tranzitorii (acute, reversibile) sunt produse de virusuri care afectează celulele cu proliferare intensă. Un exemplu este parvovirusul canin și virusul panleucopeniei feline. Aceste virusuri nu afectează numai celulele intestinale, ci și țesutul limfoid și măduva hematogenă. Ele produc o leucopenie severă, atât din cauza afectării medulare, cât și a consumului crescut la locul leziunii gastro-intestinale. Afectarea măduvei hematogene este tranzitorie, astfel rar apare trombocitopenie și anemie. Anemia, frecvent întâlnite la acești pacienți, este cauzată de hemoragia de la nivelul tractului gastro-intestinal (28, 29).

Agranulocitoza poate fi dată de toxicitate medicamentelor administrate. Anumite medicamente, cum ar fi agenții alchilanți și antimetaboliții utilizați în tratamentul cancerului , produc agranulocitoză într-un mod sigur, în funcție de doza administrată. Alte substanște are au acest efect sunt: aminopirina, cloramfenicol, sulfonamide, clorpromazină, tiouracil și fenilbutazonă. Neutropenie indusă de clorpromazină și fenotiazină apare datorită efectului toxic asupra precursorilor granulocitari din măduva hematogenă (15, 21, 28).

Toxicitatea medicamentului depinde și pe specia animalului. Câinii și dihorii sunt sensibili la estrogeni, dar nu și pisicile (29).

Alterările medulare ireversibile (cronice) – se datorează *mieloftiziei* (pancitopenie mieloftizică), ce reprezintă înlocuirea celulelor hematopoetice din măduva hematogenă cu alte tipuri celulare. Aceasta poate să apară în diferite tulburări:

mielofibroză (sau metaplazia mieloidă - reprezintă înlocuirea celulelor stem medulare, cu țesut fibros, cu acumularea de colagen),

sindromul mielodisplazic (SMD), *tulburări mieloproliferative* și *leucemii limfocitare*, *mielom multiplu* (a se vedea cap Modificări hematologice maligne),

alte tumori non-hematologice care invadează măduva hematogenă.

Aceste tulburări sunt asociate cu *agranulocitoză*, *trombocitopenie*, *anemiei neregenerativă* și frecvent cu modificări morfologice semnificative în toate celulele sanguine circulante. Aspiratul medular prezintă, de asemenea, anomalii semnificative și caracteristice (21, 23, 28, 30).

3.6. Modificări hematologice maligne

Modificările maligne sunt cele mai importante tulburări ale celulelor albe din punct de vedere clinic. Acestea se datorează transformării maligne a unor precursori ai celulelor sangvine pe parcursul diferențierii celulare. Aceste boli se împart în mai multe categorii în funcție de linia de diferențiere afectată (mieloidă / limfoidă) și nivelul de diferențiere a precursorilor celulelor sanguine (20, 25, 30).

Tulburări limfoproliferative (cel mai frecvent cu origine extra-medulară) includ un grup divers de tumori ale limfocitelor B, limfocitelor T, și celulelor NK. În multe cazuri, fenotipul celulei neoplazice se aseamănă mult cu fenotipul unui anumit stadiu al diferențierii limfocitelor normale, o caracteristică care este utilizat în diagnosticul și clasificarea acestor tulburări (20, 25, 30).

Tulburări mileoproliferative (în măduva hematogenă) provin din celule progenitoare mieloide. Se cunosc trei categorii : *leucemii mieloide acute*, în care predomină celulele precursoare imature în măduva osoasa; sindromul mielodisplazic, care se asociază cu hematopoeză ineficientă și citopenii în sângele periferic; și *tulburări mieloproliferative cronice*, în care crește producția unuia sau mai multor elemente mieloide diferențiate (de exemplu, granulocite) (20, 25, 30).

Măduva hematogenă poate sa fie afectată primar, atunci când celulele maligne au origine medulară sau secundare, ca urmare a invaziei, atunci când celulele maligne provin din țesutul limfoid. Celulele hematopoietice normale sunt înlocuite cu populația de celule neoplazică care rezultă în citopenie mieloftizică (20, 25, 30).

Sindromul mielodisplazic (SMD), mielodisplazia, (cunoscut în trecut ca preleucemia), reprezintă displazia precursorilor mieloide, celulele displazice înlocuiesc celulele stem normale din măduva osoasă. Ele sunt rezultatul unor mutații ce afectează celule stem multipotente, care duce la proliferarea clonală și le face incapabile să genereze celule sanguine. SMD prezintă riscul ca aceste celule să acumuleze și alte mutații și să evolueze către *tulburări mieloproliferative*. Chiar și daca nu progresează în leucemii, SMD pune în pericol viața pacientului prin pancitopenie, respectiv anemie severă neregenerativă, trombocitopenie (cauzând purpură trombocitopenică), leucopenie (cauzând imunosupresie). Alături de pancitopenei se mai pot constata si semne de de diseritropoeză cum ar precursori eritrocitari atipici, plachete gigantice, neutrofile hiper/hiposegmentate. Diagnosticul se pune pe baza medulogramei, care relevă displazie medulară (20, 28, 30).

3.6.1. Tulburări limfoproliferative

Tulburările limfoproliferative (neoplasmele limfoide) provin din transformarea malignă clonală a precursorilor limfoizi sau a limfocite mature din măduva osoasă, limfonodulii sau alte structuri limfoide (20, 30).

Tulburări limfoproliferative se împart în *leucemii limfoide* și *limfom*. În leucemii este afectată măduva și sângele periferic (de obicei, dar nu întotdeauna). Limfomul este o tumoră solidă care apare în țesuturi limfoide, altele decât măduva osoasă (20, 30).

Alt grup important al tumorilor limfoide sunt reprezentate de neoplasmele plasmocitelor. Această categorie include plasmocitomul și

mielomul celulelor plasmatice (mielom multiplu). Aceste proliferări maligne ale celulelor plasmatice apar cel mai frecvent în măduva hematogenă și implică doar rareori limfonodulii sau sângele periferic (20, 30).

a) Limfomul

Limfomul este o tumoră solidă cu origine în organele limfoide (splina, timusul, structură limfoide diseminate) În trecut, a fost numit "limfosarcom" sau "limfom malign", ternemi corecți din punct de vedere etimologic, dar acum termenul de *limfom* este larg acceptat pentru a defini o tumoră malignă a limfocitelor mature (20, 30).

Limfomul este clasificat în funcție de distribuție anatomice, model histologic, morfologia celulară, și expresia markerilor de diferențiere (CD)

Clasificarea în funcție de distribuția anatomicăeste cea mai utilizată în medicina veterinară:

Limfom multicentric - ganglioni limfatici și organe interne (splină si ficat)

Limfom digestiv - tractul gastro-intestinal și a nodulilor limfatici aferenți

Limfom mediastinal - timusul și limfonodulii mediastinali.

Limfom cutanat - afectează zone de piele izolate sau poate fi generalizat, care implică epiteliul sau derm și ganglionii limfatici aferenți

Alte categorii de limfom – această categorie include limfoame de își au originea în organe ca rinichi, ochi, creier etc (20, 30).

Conform OMS (Organizația Mondială a Sănătății) limfomul la animale se clasifică în urmatoarele stadii

Stadiu I - este implicat doar un singur ţesut limfoid și organe (excepția măduva osoasa)

Stadiu II - mai mulți limfonoduli într-o regiune

Stadiu III - limfonoduli din diferite regiuni

Stadiu IV - ficatul si splina

Stadiu V - celulele neoplazice sunt prezente in sângele circulant si măduva osoasa (20, 30)

Limfomul este frecvent întâlnite la câini, pisici și dihori domestici, și mai puțin frecvente la cai. La vaci limfomul și alte neoplasme limfoide sunt aproape întotdeauna asociate cu infecția cu virusul leucemiei bovine (BLV) (20, 30).

Limfom canin este de obicei multicentrice, se întâlnesc și celelalte forme, dar cu o frecvență mai mică. Caracteristica clinică principală este mărirea limfonodulilor, iar apoi extinderea la organele interne. Modificările hematologice nu sunt specifice, până în stadiul final. Apare frecvent *hipercalcemia* ca urmare a producției de peptide înrudite cu hormonul paratiroidian de către limfocitele neoplazice, care activează osteoclastele (sindrom paraneoplazic).

Limfomul felin este în principal asociat cu infecția cu virusul leucemiei feline (FeLV), limfomul alimentar este cea mai comună formă. Alte forme sunt de asemenea prezente. Modificările hematologice sunt mai puțin frecvente, dar poate să apară anemia macrocitară neregenerativă, trombocite gigante, uneori limfocite atipice (28, 30).

b) Leucemia acută limfocitară (Leucemia acută limfoblastică)(LAL)

Leucemia acută limfocitară (LAL), cunoscută și sub denumirea de *leucemie acuta limfoblastică*, (LAL) reprezintă proliferarea malignă a precursorilor limfocitari, în măduva osoasă. Apare mai rar în comparație cu limfomul. Apare frecvent la pisicile infectate cu FeLV. LAL pot apărea la orice vârstă și are un prognostic nefavorabil (supraviețuire medie este de aproximativ 65 zile).

Diagnosticul se bazează în principal pe prezența limfocitelor neoplazice (limfoblași) - examinate pe frotiurile de sânge sau pe medulogramă. Ele sunt mari, cu nucleu rotund, cromatină dispersată, multiple nucleoli sau inele nucleare. Pacienții prezintă citopenie mieloftizică (care afectează una sau mai multe linii celulare).

După distribuția celulelor tumore se clasifică în trei forme:

Formă aleucemică – blaşti doar în măduva osoasă

Formă subleucemică – blaşti în număr. redus pe frotiu

Forme leucemice – blaşti pe frotiu de sânge (28, 29, 30)

c) Leucemia cronică limfocitară (LCL)

Leucemia cronică limfocitară (LCL) este o boală malignă însoțită de un număr crescut de la limfocite relativ diferențiate în organele limfoide secundare. Apare mai frecvente la câini, mai ales la pacienții vârstnici, evoluția clinică este mai lentă ca in LAL (supraviețuirea medie este de aprox. 450 zile).

Principalele caracteristică este limfocitoză (la câini peste 10.000/µl), cu morfologia asemănătoare limfocitelor mici normale. De obicei, acesta este asociat cu limfadenopatie, splenomegalie și hepatomegalie. Măduva hematogenă este invadată în stadiul avansat, urmată de citopenia mieloftizică (28, 29, 30).

d) Tumorile plasmocitelor

Tumorile plasmocitare apar datorită proliferării plasmocitelor. Exista două tipuri de tumori cunoscute *plasmocitomul* și *mielomul plasmocitelor* (mielom multiplu).

Plasmocitomul este o tumoră localizată în piele și mucoase. Nu secretă imunoglobuline, astfel încât acestea nu au efect sistemic. La pisici pot să aibă un caractez invaziv local.

Mielomul multiplu este o proliferare clonală în măduva osoasă a plasmocitelor acompaniată de gamopatie monoclonală. Aceste celule pot produce mai multe tipuri de imunoglobuline, mielomul multiplu non secretor se întâlnește mai rar. Cele mai importante criterii de diagnosticare sunt hiperproteinemie, hiperglobulinemie, cu model caracteristic la electroforeză. Gama globulinele sunt foarte crescute ceea ce apare și pe electroforeză (care este semnul distinctiv al gamopatiei monoclonale). Aceste proteine anormale sunt cunoscute ca paraproteine (21, 28, 29, 30).

3.6.2. Tulburări mieloproferative

Tulburările mieloproferative sunt leucemiile cu originea în măduva osoasă, care implică proliferarea celule liniei mieloide. În funcție de gradul de diferențiere a celulelor neoplazice, leucemia poate fi *leucemie mieloidă acută* (LMA) – cu proliferearea celulelor precursoare nediferențiate, sau *bolile mieloproferative cronice* (BMPC) – cu proliferarea celulelor mai diferențiate, care din punct de vedere morfologic sunt mai aproape de celulele mature întâlnite în mod normal pe frotiul de sânge și în măduvă.

Tulburările mieloproliferative sunt destul de rare la animale. Diferențierea în leucemie cronică sau acută se bazează pe procentul de "celule blastice" în sânge și măduvă osoasă. În stadiile avansate leziunile infiltrative se găsesc în organe interne (în principal, splină de ficat). Terapia nu este foarte eficientă (28, 29, 30).

a) Leucemia acută mieloidă (LMA)

Leucemie mieloidă acută (LMA), la câini și pisici se clasifică în mai multe subgrupe, conform clasificării folosite în medicina umană. Diagnosticul de LMA se bazează pe citologia medulară (peste 30% celule blastice raportate la toate celulele nucleate). În plus procentul blaștilor din măduva osoasă este un important criteriu de diferențiere. Colorațiile citochimice sunt deosebit de utile în a distinge diferitele tipuri, deoarece

blaștii au un aspect foarte asemănător. Similar cu LAL, LMA au o evoluție rapidă, cu prognostic nefavorabil (21, 28, 29, 30).

Subgrupurile LMA recunoscute în medicina veterinară sunt (30):

Leucemia acuta nediferențiată (**AUL**) – număr mare de blaști nediferențiați

Leucemia acută mieloblastică –

Leucemie mieloblastică cu maturare (**M1**),

Leucemie mieloblastică fără maturare (**M2**) –

Leucemie promielocitară (**M3**)

Leucemia mielomonocitară (**M4**) –mieloblaști și monoblaști în măduvă si sânge periferic

Leucemia monocitară (**M5**) – invazia medulară cu celule din linia monocitară, în sânge monocitoză (monocite imature sau cu aspect bizar).

Eritroleucemia (**M6**) - la pisici infectate cu FeLV. Eritroblaști și mieloblaști în măduvă și sânge.

Leucemia megacariocitară (**M7**) – prezența de megacarioblaști, și pancitopenie mieloftizică (mai ales trombocitopenie).

b) Bolile mieloproferative cronice (BMPC)

Bolile mieloproferative cronice (BMPC) reprezintă proliferările neoplazice a precursorilor mai maturi a seriei mieloide. În măduva osoasă procentul de blaşti e sub 30%. Afectează cu preponderență animalele vârstnice, are o evoluție mai lentă, de obicei în stadiul terminal se transformă în LMA (28, 29, 30).

Subtipurile BMPC sunt (30):

1. *Leucemia granulocitară cronică* (LGC) – se caracterizează prin proliferarea neutrofilelor realtiv mature. Pe frotiul de sânge se poate observa un număr mare de neutrofile cu nucleu nesegmantat (indice Arneth deviat spre stânga) împreună cu precursori neutrofilici în diferite stadii de dezvoltare (metamielocite, mielocite, promielocte și mieloblaști). Apare rar la câini, pisici și cai.

2. *Leucemia eosinofilică cronică* (LEC) – se caracterizează cu eozinofilie marcantă (diferite stadii de maturare) și invazia eozinofilică în măduva osoasă. Apare la pisici, fără implicarea FeLV. Are caracteristici similare cu sindromul hipereozinofilic.

3. *Leucemia cronică bazofilică* – evoluează cu bazofilia marcantă, infiltrarea bazofilică a diferitelor organe Foarte rară la câini și pisici.

4. *Policitemia vera* – eritrocitoza (esențială) primară – este o neoplazie caracterizată prin creșterea eritropoezei independentă de stimulare de eritropoietină. Caracteristicile clinice sunt eritrocitoza absolută, cu eritrocite

normale asociată cu un nivel scăzut de eritropoetină. Acesta a fost descris la câini, pisici, bovine și cai.

5. *Trombocitemia esențială* – număr crescut de trombocite (peste 1 000 000/µl), cu morfologie normală sau modificată (trombocite gigante, intens granulate). Număr crescut de megacariocite în măduva hematogenă.

6. *Leucemie cronică mielomonocitară*

7. *Leucemie cronică monocitară* –

4. Patologia hemostazei

4.1. Fiziologia hemostazei

Hemostaza este încetarea sângerării dintr-un vas deteriorat. Sunt descrise trei etape ale hemostazei: (1) *hemostază primară*, (2) *hemostază secundară* (coagulare) și (3) *hemostază definitivă*.

(1) *Hemostaza primară* apare atunci când trombocitele formează un *trombusul alb*, la locul leziunii. În primă instanță, vasoconstricția reduce pierderea de sânge. Când endoteliul este deteriorat, Factorul von Willebrand (vWF) izolat în mod normal de celulele endoteliale, este expus sângelui și recrutează Factorul VIII, colagenul și alți factori de coagulare (2, 7).

Trombocitele sunt factori cheie în hemostaza primară; număr redus de trombocite (*trombocitopenie*) sau alterarea funcției trombocitelor (*trobocitastenie*) compromite hemostaza primară. Sinteza trombocitelor are loc în măduva osoasă prin fragmentarea megacariocitelor, regulatorul umoral al sintezei trombocitelor este *trombopoietina*. Trombopoetina este sintetizată în principal de ficat, în timp ce receptorii trombopoietinei sunt localizați pe trombocite și megacariocite. Când concentrația trombocitelor scade, mai multă trombopoietină rămâne disponibilă pentru a lega megacariocitele, stimulând astfel trombopoeza. Sinteza trombopoietinei este, de asemenea, stimulată de mediatori inflamatori (IL6), astfel sindromul de răspuns

inflamator sistemic se realizează prin concentrație crescută de trombocite – *trombocitoză* (21).

Trombocitele circulante se leagă de colagen cu receptorii de suprafață Ia / IIa specifici pentru colagen. Activarea trombocitelor este amplificată în continuare prin produșii de oxidare a acidului arahidonic prin calea ciclooxigenazei (PGH2 și produsul specific metabolismului trombocitar - tromboxanul A2). În agregarea plachetară un factor important este și *trombina*. Aspirina, care inactivează enzima ciclooxigenaza împiedică sinteza plachetară a PGH2 și limitează capacitatea colagenului de a activa trombocitele. Din această cauză, la pacienții sănătoși, aspirina prelungește ușor timpul de sângerare, deoarece generarea normală de trombină asigură agreagarea plachetară. Pe de altă parte, deși pacienții hemofilici nu pot genera cantități normale de trombină, timpul său de sângerare este normal sau ușor prelungit, deoarece colagenul și PGH2 sunt suficiente pentru a inița activarea trombocitelor. Din același motiv, admnistrarea de heparină, ce are rolul de bloca sinteza trobinei, nu comprimite funcția plachetară și prin urmare nu modifică timpul de sângerare. Dar dacă atât sinteza trombinei cât și activarea sinteza PGH2 sau a tromboxanului este compromisă, timpul de sângerare este substanțial crescut. Acesta este cazul când unui pacient hemofilic sau un pacient care primește ca anticoagulant heparină, i se administrează aspirină sau un alt inhibitor de ciclooxigenază (20).

(2) *Hemostaza secundară* (cunoscută și sub numele de *coagulare*) este un proces complex prin care sângele formează *trombusului (coagulul) roșu*. Procesul coagulării sângelui este unul extrem de complicat, o descriere detaliată a acestui proces depășește scopul lucrării de față. În cele ce urmează ne vom concentra pa acele elemente necesare pentru înțelegerea metodelor de

explorare a coagulării, și semnificației lor. Factorii de coagulare se activează într-o cascadă complexă pentru a transforma *fibrinogenul solubil* în catene de *fibrină*. Fibrina creează o rețea care prinde hematiile generând trombusul roșu. Toți factorii de coagulare sunt prezenți în sânge (excepția factorului III care este prezent în pereții vasculari), într-o *formă inactivă*. Au fost descriși 12 factori de coagulare; precursorii inactivi ai factorilor de coagulare sunt numerotați cu litere latine, de la I la XIII (factorul VI nu există!). Forma activă a factorului de coagulare este marcată de sufixul „a". De exemplu, precursorul inactiv al factorului Hageman este XII, în timp ce forma activă XII a. Cascada de coagulare este poate fi sistematizată în trei căi care duc la formarea fibrinei. Acestea sunt *calea intrinsecă*, *calea extrinsecă* și *calea comună* (2, 7, 21).

Calea extrinsecă poartă acest nume deoarece este declanșată de un factor care nu este în mod normal conținut în sânger, *factorul tisular* (III) eliberat de celulele musculare netede. În final activează factorul *Stuart Power* (X) care declanșează calea comună. Este o cale de activare scurtă, relativ rapidă și calea preferențială prin care sângele se activează în cazul unei hemoragii (2, 7, 21).

Calea intrinsecă poartă acest nume deoarece toți factori implicați sun prezenți în sânge, în mod normal sub formă de cofactori. Este activată atunci când factorul *Hageman* (XII) intră în contact cu suprafețe încărcate negativ sub formă de sticlă sau colagen, acesta activează în final factorul *Stuart Power* (X) punctul în care apare calea intrinsecă și extrinsecă. În calea intrinsecă apar și factorii XI, IX (Cristmas) și VIII. Aceasta este calea predominată prin care sângele se coagulează *in vitro* (2, 7, 21).

Calea comună, calea în care converg atât calea intrinsecă cât și calea comunună, este inițiată de Xa care activează *protrombina* (II); *trombina* (IIa) catalizează transformarea *fibrinogenului* (I) în *monomeri cu fibrină* (Ia) și apoi în polimeri, care sunt legați încrucișat de *factorul de stabilizare a fibrinei* (XIIIa), activat și de *trombină*. Factorul *Leiden* (V) amplifică calea comună. Ca^{2+} (factorul IV) susține activarea factorilor IX, VIII, III și V astfel este și ele o parte esențială a cascadei de coagulare (7, 21).

Aceiași factori responsabili de hemostază declanșează mecanismele fibrinolizei, care limitează întinderea coagulării, iar acesta din urmă va elimina cheagul atunci când nu va mai fi necesar (21).

(3) *Hemostaza definitivă* - În cele din urmă, pereții vasculari sunt vindecați și cheagurile de sânge sunt reorganizate și resorbite - *fibrinoliză*. Principala enzimă responsabilă de acest proces (*plasmina*) este reglată de diverși activatori și inhibitori (7, 21).

Defectele hemostazei includ *sângerare excesivă* și *tromboză intravasculară*.

Sângerarea excesivă poate rezulta din: fragilitatea crescută a vaselor; 2. deficiență de trombocite sau disfuncție, dereglarea coagulării, singură sau în combinație (7).

4.2. Evaluarea hemostazei

Cele mai comune teste de laborator utilizate în evaluarea hemostazei sunt axate pe investigarea hemostazei primare și investigarea hemostazei secundare.

4.2.1. Investigarea hemostazei primare

Plachetele totale (PLT) sunt determinate din sânge anticoagulat folosind un analizor automat sau tehnici manuale. Intervalul de referință este de 100×10^3 până la 800 x 10^3 trombocite / μL (în funcție de specie, caii au cea mai mică concentrație, iar pisicile au cea mai mare). În cazul în care analizorul determină o valoare în afara acestui interval, valoarea ar trebui să fie confirmată printr-o inspecție vizuală a unui frotiu de sânge periferic, deoarece aglutinarea de trombocite, sau trombocitele mari pot provoca falsă "trombocitopenie" în timpul numărării automate. Un număr normal de trombocite este de obicei asociată cu o concentrație de 5 până la 10 plachete / câmp (grosisment x1000) (29).

Plateletocritul (trombocritul) (PCT) (%) este o valoare determinată de analizoarele automate și reprezintă masa totală de trombocite. PCT reprezintă o mai bună reflectare a potențialului hemostatic, deoarece trombocite mai mari au o funcție hemostatică mai accentuată (28, 29).

Volumul Plachetar Mediu (VPM) (fl) reprezintă volumul mediu al trombocitelor.

Lățimea distribuției volumului plachetar (PDW) este un indice de variație a volumului trombocite lor(exprimat în% sau fL) (28, 29).

Teste ale funcției plachetare.

Timpul de sângerare (TS), măsoară timpul necesar pentru a opri sângerarea în cazul unei puncții standardizate, rana poate fi creată într-o zonă fără păr ca fața labială a buzele, gingiile, și oglindda botului. Testul este mai bine în standardizat la câini și se efectuează pe membrana mucoasă bucală. Buza superioară este rulată în exterior, apoi este realizată o leziune standardizată (5 x 1 mm) pe suprafața și excesul de sânge este șters cu o hârtie de filtru fără a atinge rana. Cronometrul este oprit când sângerarea încetează. La câinii, TS normal este de 1-5 min, de obicei, mai puțin de 4 minute. În cazul în care factorii de coagulare sunt afectați, trombusul plachetar încă se formează. TS are o anumită valoare diagnostică, dar este consumator de timp și dificil de efectuat și nu este un bun predictor al sângerării in timpul solicitărilor hemostatice, cum ar fi o intervenție chirurgicală (21, 29).

Testele de agregare plachetară, - măsoară capacitatea plachetelor de a agrega ca răspuns la o varietate de stimuli chimici *in vitro*. Aceste teste dau rezultate cu o valoare similară cu TS, dar au avantajul că nu necesită efectuarea de manopere pe pacient, rezultatele sunt constante și reproductibile (8). Necesită însă echipamente realtiv constisitoare de aceea sunt rar utilizate in laboratorul veterinar.

4.2.2. Investigarea hemostazei secundare (coagularea)

Timpul de protrombină (TP), cunoscut și sub numele de *test Quick*, evaluează calea *extrinsecă* și *comun*ă. Testul este foarte sensibil în deficitul de vitamina K și hepatopatii. Principiul testului constă în coagularea plasmei după adăugarea unei surse exogene de tromboplastină tisulară ce conține tromboplastină și factor tisular (de exemplu, extract de creier), rezultatul obținut se exprimă în secunde (8, 28). În medicina umană rezultatul se exprimă în INR (International Normalized Ratio) pentru a corecta diferențele în ceea ce privește reagenții utilizați de diferite laboratoare (8). Tromboplastina utilizată este capabilă să interacționeze cu factorii de coagulare: I (fibrinogen), II (protrombină), V, VII și X. Unele chituri sunt heparin-insensibile; reactivul conține un agent de neutralizare a heparinei, în acest caz nu poate fi utilizat pentru a evalua efectul tratamentului cu heparină, dar poate fi utilizat pentru sângele recolat pe heparină (8, 28).

Timpul parțial de tromboblastină activată (TPTA) (*activatet partial tromboplastin time aPTT engl.*), evaluează căile intrinsecă și comună ale coagulării. Testul este pozitiv în hemofilia A și B, lupus eritematos atunci când sunt asociate cu anticorpi antifosfolipidici, deficit de vitamină K și hepatopatii. Principiul testului constă în coagularea plasmei după adăugarea de *factori activatori* (cum ar fi caolinul, silicați sau acidul elagic), *fosfolipide* (cefalina) și Ca^{2+} și se măsoară în secunde. *Fosfolipidele nu copnțin factor III tisular* deci ele nu sun tcapabile să activeze calea extrinsecă. *Factorii activatori* activează factorul XII, iar *cefalina* substituie fosfolipidele din trombocite. Prelungirea TPTA poate fi din cauza deficienței sau disfunctia

factorilor V, VIII, IX, X, XI sau XII, protrombina sau fibrinogen, sau interferarea anticorpi fosfolipide (8, 28).

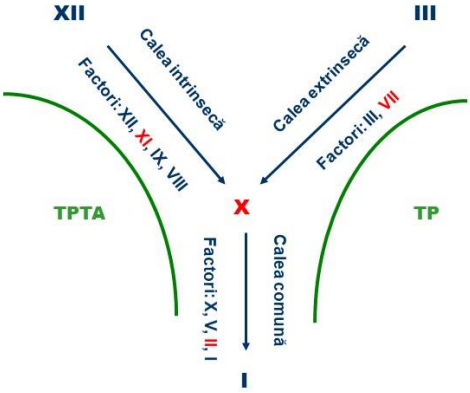


Fig. 4.1. Fiziologia și explorarea hemostazei secundare

Hemostaza secundară (coagulare) este un proces complex prin care sângele formează coagulul roșu (secundar). Constă în *calea intrinsecă*, *calea extrinsecă* și *calea comună*. Timpul de protrombină (TP) evaluează căile de coagulare *extrinsecă* și *comună* (fiind foarte sensibil în cazul deficienței de vit K și hepatopatii), în timp ce Timpul parțial de tromboplastină activată (TPTA), evaluează căile de coagulare *intrinsecă* și *comună* (hemofilie A, hemofilie B, boală von Willebrandt, dar se modifică și în deficiența de vit K și în hepatopatii, deși nu este la fel de sensibil ca și TP. (Sinteza hepatică a factorii marcați cu roșu este dependentă de vitamina K)

4.3. Afecțiuni asociate cu alterarea hemostazei

Defectele hemostazei includ *sângerarea excesiva* si *tromboza intravasculară*. Sângerarea excesiva poate rezulta din creșterea fragilității vasculare, deficit de trombocite sau disfuncție plachetară, alterari ale procesului de coagualare datorită absenței / incativării unuia sau mai multor factori (20).

4.3.1. Alterarea hemostazei primare

Alterarea pereților vasculari

Tulburări din cadrul acestei categorii, numite și purpură nontrombocitopenică, nu cauzează de obicei probleme grave de sângerare. Cel mai adesea, ele induc hemoragiile mici (peteșii și purpură) pe piele sau pe membranele mucoase, în special gingii. Ocazional, pot apărea hemoragii mai semnificative la nivelul articulațiilor, mușchilor și locațiilor subperiostale, sau sub formă de hemoragii nazale, sângerări gastro-intestinale sau hematurie. Atât numărul de trombocite, timpul de sângerare și testele de coagulare (PT, TPTA), rămân în limite normale (28, 29).

In cele mai multe cazuri, purpura nontrombocitopenică este datorată unei *vasculite* mediate prin prin *depunerea de complexe imune* în pereții vaselor (hipersensibilitate de tip III). Alte posibile cause sunt *sindromul Ehlers-Danlos* (colagenoză ereditară) și *scorbutul* (carența de vitamina C ce

poate afecta primatele și cobaiul) sunt asociate cu sângerare microvasculară, care rezultă din defecte de colagen care slăbește pereţii vasului (20, 30).

Trombocitopenia

Reducerea drastică a numărului de trombocite, poate constitui o cauză importantă de sângerare generalizată. Un număr de trombocite sub 100.000/µl este considerat ca fiind trombocitopenie. Cu toate acestea, sângerare spontană nu devine evidentă până când numărul de trombocite scade sub 20.000 /µl. Scăderea în intervalul de la 20.000 la 50.000 /µl poate agrava sangerarea post-traumatic. Sângerarea care rezultă din trombocitopenie este asociată cu un PT și TPTA normale (29).

Trombocite sunt esențiale pentru hemostază, deoarece acestea formează trombusul plachetar care opreşte sângerarea și inițiază cascada de coagulare. Sângerare spontană asociată cu thrombocitopenia implică cel mai adesea vasele mici. Hemoragiile sunt de obicei localizate în piele și mucoasele tractului gastrointestinal și genito-urinar. Cea mai periculoasă este hemoragia intracraniană (1, 15, 20).

Cauzele trombocitopeniei pot fi clasificate în patru mai categorii:

(1) *reducerea sintezei plachetare* se datorează unor factori care deprimă producția de măduvă, în general, sau pot afecta megacariocitelor oarecum selectiv. Ea poate fi indusă de medicamente (estrogeni la câini și dihori), toxine (stahibotriotoxicoza), agenți infecțioși (Ehrlichia canis la câini), mieloftizie etc (16, 21, 27).

(2) *distrugerea intensificată de trombocite* apare în *trombocitopenie autoimună*. Acesta a fost descris în principal, la câini și cai, distrugerea

trombocitelor este cauzată de anticorpi față de trombocite sau, mai puțin frecvent, complexe imune care se depun pe trombocite (16, 21, 27).

(3) *consumul crescut de trombocite* este asociat cu coagularea intravasculară diseminată (CID), în care numărul trombocitelor poate scădea până la valori critice. Hemoragia poate induce și ea trombocitopenie, dar valorile nu scad de obicei la mai puțin de 100.000 /µl (16, 21, 27).

(4) *sechestrarea splenică* poate apărea în splenomegalie (hipersplenism). La câinii, hemangiosarcomul (mai frecvent localizat în splină) este responsabil nu numai de anemie, ci și trombocitopenie (16, 21, 27).

(5) *diluție în urma transfuzie de sânge* (trombocitopenie diluțională), este o consecință a depozitării prelungite de sânge. Numărul de trombocite viabile scade; în acest fel, volumul plasmatic și masa de celule roșii sunt reconstituite prin transfuzii, dar numărul de trombocite care circulă este relativ redusă (16, 21, 27).

Alterarea funției plachetare (trombocitoastenia)

Defectele calitative ale funcției plachetare pot fi moștenite sau dobândite.

Trombocitastenii dobândite - funcția trombocitară poate fi inhibată în mai multe circumstanțe patologice:

- doze mari de medicamente anti-inflamatoare nesteroidiene (AINS)
- prezența proteinelor anormale (paraproteine in mielom multiplu)
- anticorpi anti-trombocitari (28, 29)

Trombocitastenii ereditare

Cea mai comună este boala von Willebrand (BvW). Acesta este asociat cu un deficit de factor von Willebrand (FvW), o proteină sintetizată de celulele endoteliale și megacariocite. FvW este prezent la nivelul celulelor endoteliale și în plasmă legată de factorul VIII. FvW este neces pentru adeziunea plachetelor la colagen în membrana bazală expuse în peretele vascular lezionate. Prin urmare, în BvW formarea trombusului alb plachetar este afectata. În funcție de nivelurile plasmatice de FvW au fost distinse trei tipuri, fiecare cu propriile sale caracteristici. Acestea au o severitate variabilă de la afecțiuni benigne la boli grave și afectează un număr mare de rase de câini, cum ar fi Corgi galez, Pinscher, Ciobănesc german, Golden Retriever, Pudel, Pointer, Terrier-ul scoțian, etc. BvW a fost identificată și la iepuri, pisici, cai și porci (28, 30).

4.3.2. Alterarea funcționala a factorilor coagulării

Deficiențele moștenite sau dobândite interesează aproape fiecare dintre factorii coagulării. Spre deosebire de hemoragia petesiala văzut cu trombocitopenie, hemoragia rezultată ca urmare a deficientelor factorilor de coagulare se manifestă cel mai frecvent fie sub formă de echimoze post-traumatice sau hematoame, sau sângerări prelungite după un traumatism sau orice altă formă de intervenție chirurgicală. Cel mai adesea, sângerarea are loc în tractul gastrointestinal, urinar, și la nivelul articulațiilor (hemartroza) (29).

Coagulopatii dobândite

Deficienta de vitamina K - este relativ comună atât la animale mari și mici. Deficiența primară este rara, deoarece bacteriile colice la animale sănătoase sunt capabile să producă suficientă vitamina K. În plus, dieta normala conține vitamina K în cantitate suficientă. Principalele cauze ale deficitului de vitamina K, sunt administrarea de antagoniști ai vitaminei K sau antibiotice, care distrug flora intestinală normală. Antagoniștii vitaminei K inhibă reducerea formei oxidate vitaminei K înapoi în forma activă. Cel mai important antagonist sunt cumarinicele rodenticide de tip indanedionei. Vitamina K este necesara pentru sinteza multor factor de coagulare în ficat (II, VII, IX, X), dar nu este implicat direct ca factor de coagulare. De aceea efectul terapiei de vitamina K este vizibil numai la 4 ore pentru administrare intravenoasă și 12 de ore în cazul în care vitamina K este injectat intramuscular. Pentru cazurile foarte severe, sunt necesare transfuzii de plasmă sau transfuzie de sânge (16, 20, 29).

Bolile hepatice severe sunt de asemenea responsabile pentru coagulopatiei, deoarece aproape toți factorii de coagulare sunt produși în ficat (28).

Amiloidoza este asociat cu deficit de factor X deoarece acest factor este reținut de matricea amiloid (28).

Afecțiunile autoimune în care anticorpii direcționați împotriva factorilor de coagulare sunt rare, dar nu excluse (28, 29).

Coagulopatii ereditare

Hemofilia A (deficit de factor VIII)

Hemofilia A este cea mai frecventă boala ereditara la animalele domestice. Acesta a fost descrisă la oi, câini, pisici și cai. Ea este cauzata de mutatii ale factorului VIII, care este un cofactor esențial pentru factorul IX in cascada de coagulare. Hemofilia A este moștenita ca o trăsătura recesiva X-linkată si afectează, masculi și femele numai homozigote (30).

Hemofilia A prezintă o gamă largă de severitate clinică, care se corelează bine cu nivelul activității factorului VIII. Diferitele grade de deficiență de factor VIII sunt în mare parte explicate prin eterogenitate mutațiilor. Mutațiile care permit un factor VIII activ sunt asociate cu forme ușoare de boală sau forme de boala moderată. Boala la acești pacienți pot fi modificate și de alți factori genetici care influenţează nivelurile de expresie ale factorului VIII, care variază foarte mult chiar la indivizii normali (28, 30).

In toate cazurile simptomatice există o tendință crescută pentru formarea hematoamelor și hemoragie masivă după proceduri chirurgicale sau traumatisme. Chiar și hemoragiile "spontane" apar frecvent în regiuni ale corpului în mod normal obiectul unor traumatisme, în special a articulațiilor, (hemartroze). Sângerare recurentă în articulații duce la deformări progresive. Petețiile sunt în mod caracteristic absente (28).

Pacienții cu hemofilie A au de obicei un aPTT prelungit și TP normal. Aceste teste indică o anomalie a căii de coagulare intrinseci. Pentru diagnostic sunt necesare teste specifice pentru idenficarea factorului VIII anormal (29).

Hemofilia B (boala Christmas, deficit de factor IX)

Deficitul sever de factor IX produce o tulburare ce nu poate fi distinsă clinic de deficitul de factor VIII (hemofilie A). Acesta a fost descris la câini și pisici. Asemănarea lor nu este surprinzătoare, având în vedere că factorii VIII și IX acționează împreună pentru activarea factorului X. Un spectru larg de mutații care implică gena care codifica factorul IX se gaseste și în hemofilie B (30). Ca și hemofilia A este moștenita ca o trasatura recesiva X-linkată și cu o severitatea clinică variabilă. Ca și în cazul hemofiliei A, aPTT este prelungit, iar TP este normal (28). Diagnosticul de boala Christmas (numit dupa primul pacient identificat cu această condiție) (25) este posibilă numai prin analiza cantitativă a nivelurilor factorului.

O scurtă descriere a mai multor boli moștenite de la animale este descrisă mai jos (17):

Fibrinogen (I) capre, câini - homozigotă - severă

Protrombina (II) rar câini - favorabil

Proaccelerin (V) Beagle (câini) - favorabil

Hemofilia A (VIII) oi, cai, câini, pisici

Hemofilia B Christmas (VIII) câini, pisici (British Short Hair) favorabil

Stuart Power (X) câini (American Coker) favorabil

Factor XI - bovine, câine - complicații post-chirurgicale, favorabil

Hageman (XII) pisica- asimptomatic

Boala von Willebrand, câini, iepuri, porci

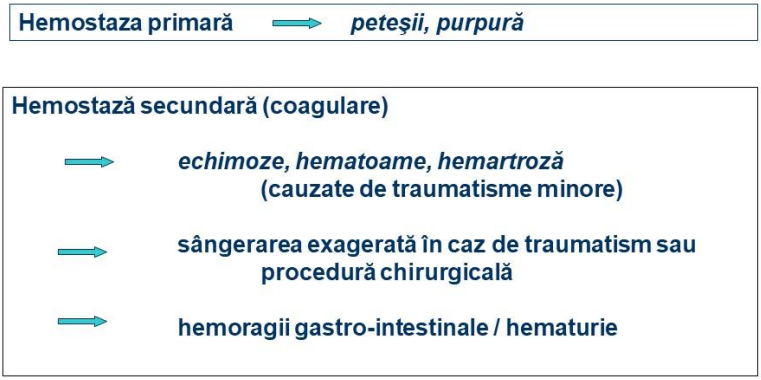


Fig. 4.2. Criterii clinice utilizate în diagnosticul diferențial al tulburărilor hemostazei

De cele mai multe ori, alterarea *hemostazei primare* (numărul / funcția trombocitelor, patologia vasculară) duce la hemoragii mici (*peteșii și purpură*); în timp ce alterarea *hemostazei secundare* (coagulare) este responsabilă de hemoragii semnificative (melenă, hematurie, hematoame, colacții sanguinolente în cavități).

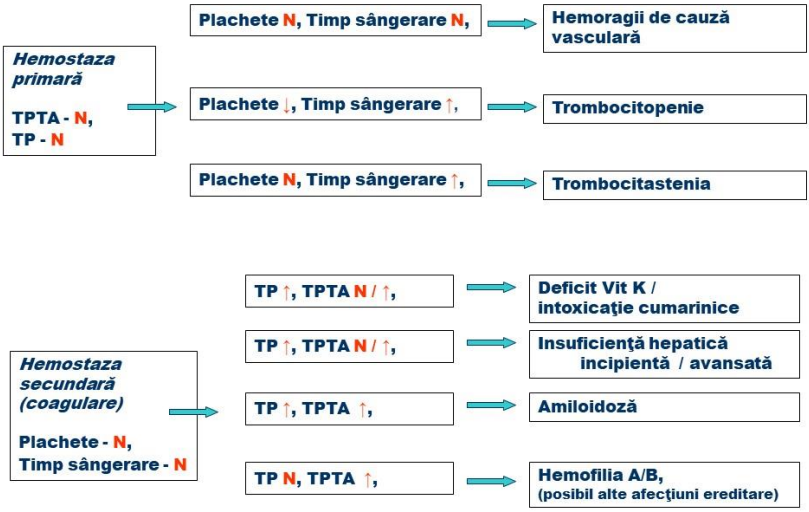


Fig. 4.3. Algoritm în diagnosticul diferențial al tulburărilor hemostazei.

În cazul *alterării hemostazei primare* testele ce investighează coagularea (TP, TPTA) *sunt nemodificate*. Daca *timpul de sângerarea* și *numărul plachetelor* este normal, tulburările hemoragipare au cauză vasculară. Daca timpul de sângerarea este prelungit și plachetele scăzute, atunci altarearea se datorează trombocitopeniei, dacă timpul de sângerare este prelungit, iar trombocitele numeric normale atunci poate fi cazul unei alterări funcționale a trombocitelor.

In cazul *alterării coagulării*, testele ce investighează *hemostaza primară* (număr de plachete și timpul de sângerare) sunt în limite normale. Daca TP este normal, iar TPTA este prelungit, denotă o alterare selectivă a căii intrinseci, care apare în unele coagulopatii ereditare care interesează factori implicați în calea intrinsecă (hemofilia A, B, boala von Willebrand etc.). În cazul în care TP și TPTA sunt ambii prelungiți, poate fi cazul intoxicației cu anti-vitamină K / carență vitaminei K, unei insuficiențe hepatice în stadiu avansat, mai rar amiloidoză, sau boli autoimune cu anticorpi anticoagulanți. În formele incipiente de carență vitaminei K sau

insuficiență hepatică, primul care se prelungește este TP, iar TPTA poate fi normal sau ușor prelungit.

4.3.3. Coagularea intravasculară diseminată

Coagularea intravasculară diseminată (CID) este o tulburare trombohemoragică caracterizată prin activarea excesivă a coagulării, ceea ce duce la formarea de trombi în rețeaua microvasculară (3, 21).

Ea nu este o afecțiune de sine stătătoare ci apare ca o complicație secundară în diferite patologii. Uneori coagulopatia este localizat într-un organ sau țesut specific. Ca urmare a trombozei generalizate are loc consumul de trombocite, fibrină, și factori de coagulare iar pe de altă parte, activarea fibrinolizei. Acestea induc o stare hemoragipară cunoscută sub numele de *coagulopatie de consum*. Prin urmare, DIC poate prezenta semne legate de hipoxie tisulară și infarcte cauzate de microtrombozele multiple și / sau hemoragii cauzate de epuizarea factorilor coagulării (19, 21, 22).

Etiologia și patogenia

CID nu este o boală primară, ci apare în cursul unor patologii variate, cum ar fi leziuni tisulare extinse, șoc caloric, unele leucemii (datorită eliberării de proteine procoagulante), sepsis, șoc toxic și septic, mușcături de șarpe, (toxinele sunt responsabile pentru leziunile endoteliale care declanșează CID), hemangiosarcomului la câini, anemia hemolitică autoimună, transfuzii de sânge incompatibil, pancreatită acută etc. CID rezultă din activarea patologica a căi extrinseci și / sau intrinseci ale coagulării. CID este declanșat de două mecanisme majore: (1) *substanțele*

tromboplastice eliberate în circulație și (2) *lezionarea extinsă a celulelor endoteliale* (5, 19, 21, 22).

(1) Substanțele tromboplastice eliberate în circulație pot fi derivate dintr-o varietate de surse, cum ar fi placenta în complicații obstetricale și granulele citoplasmatice ale celulelor din leucemie promielocitară acută. Mucusul eliberat din anumite adenocarcinoame poate activa direct factorul X, independent de factorul VII (5, 19, 22).

(2) Lezionarea extinsă a celulelor endoteliale poate iniția CID în mai multe moduri. Leziunile care provoacă necroza celulelor endoteliale expun matricea subendotelial, ceea ce duce la activarea trombocitelor și a ambelor căi ale coagulării. Leziunile endoteliale chiar subtile pot declanșa activitatea procoagulantă. Mediatorul acestui fenomen este TNF, care este implicat în CID indus de sepsis. TNF amplifică expresia moleculelor de adeziune ale celulele endoteliale și promovează adeziunea leucocitelor. Acestea pot deteriora celulele endoteliale, prin eliberarea de specii reactive de oxigen și a proteazelor. Lezionarea endotelială poate fi produsă și prin depunerea complexelor antigen-anticorp (de exemplu, lupus eritematos sistemic), de temperaturi extreme (de exemplu, șocul caloric, arsuri), sau microorganisme. Chiar și o leziune endotelială subtilă poate declanșa activitatea procoagulantă prin creșterea expresiei membranare a factorului tisular (5, 19, 20, 22, 26).

CID este un proces dinamic în cadrul căruia se pot distinge două etape principale:

(1) În prima etapă, are loc o depunere pe scara larga a fibrinei în microcirculației. Acest lucru duce la ischemie cu infarcte multiple în organe și o anemie hemolitică microangiopatică, care rezultă din fragmentarea

hematiilor, deoarece acestea sunt forțate să se strecoare prin capilare obturate parțial de fibrină (5, 19, 22).

(2) În etapa a doua, consumul de trombocite și a factorilor de coagulare precum și activarea plasminogenului conduc la *diateza hemoragica*. Plasmina nu numai că scindează fibrina, dar digradează și factorii V și VIII, reducându-le astfel concentrația sanguină. În plus, produșii de degradare a fibrinei ce rezultă din fibrinoliza inhibă agregarea plachetară, polimerizarea fibrinei și trombină (5, 19, 22).

Testele care investighează coagularea (TP și TPTA) în prima etapă sunt reduși, dar de obicei, pacienții sunt investigați în a doua etapă, în faza de hipocoagulabilitate. În această etapă TP și TPTA sunt prelungiți, concentrația de fibrinogen scade, iar examenul hematologic relevă trombocitopenie. In plus sunt frecvent întâlnite, schistocitele (fragmente eritrocitare ce apar ca o consecința a anemiei hemolitice microangiopatice) și nivelurile crescute de produși de degradare fibrinogenul. CID nu are nici o terapie specifică; pacienții afectați de CID trebuie tratati pentru boala primară (28, 29).

5. Prezentări de caz

5.1. Boby.

Date de identificare: Câine, 1 an, rasă comună, Femelă
Anamneză: politraumă
Semne clinice: Tahicardie, tahipnee

	Valori	Valori de referinţă	Unităţi de măsură
Eritrograma			
Eritrocite totale	**4.51**	5.5-8.5	10^6/µL
Hb	**9.5**	12-18	g/dL
Hct	**27.44**	37-55	%
VEM	**61**	60-77	fL
HEM	**21**	19.5-24.5	pg
CHEM	**34**	32-36	g/dL
Ind anizocitoza	**14.9**		%
Reticulocite %	**1.1**	0-1	%
Ret. Conc.			10^3/µL
PRC			%
Leucograma			
Leucocite total	**13.28**	6-17	10^3/µL
Neutrofile (ns)	**0.75**	0-3	(%)
Neutrofile (seg)	**71.91**	35-75	(%)
Eozinofile	**1.96**	2-10	(%)
Bazofile	**1.43**	0-0.5	(%)
Limfocite	**20.93**	20-55	(%)
Monocite	**3.01**	1-4	(%)
Leucocite total	**0.1**	0-0.3	10^3/µL
Neutrofile (ns)	**9.55**	3-11.4	10^3/µL
Neutrofile (seg)	**0.26**	0.1-0.75	10^3/µL
Eozinofile	**0.19**	rare	10^3/µL

Bazofile	**2.78**	1-4.8	10^3/µL
Limfocite	**0.4**	0-0.3	10^3/µL
Trombograma			
Trombocite total	**150**	200-900	10^3/µL
PCT	**0.11**		%
VPM	**8.4**	10-12	fL
Ind anizocitoză	**15.8**		

Răspuns:

Eritrograma: Hct este scăzut, dar depășește limita anemiei moderate (25%), astfel putem considera această anemie ca fiind ușoară. VEM și CHEM se află în limitele normale, precum și Ind anizocitoză, astfel este o anemie normocitară, noromocromă fără anizocitoză. Procentul de reticulocite corectat este in limite normale. Pe baza acestor constatări, putem concluziona că nu există semne de anemie regenerativă.

Leukograma arată valori normale.

Trombogramă: Trombocitopenie ușoară (peste 100.000 / µL), cu dimensiuni normale, plachete omogene.

Diagnostic general: În acest caz, anamneza este foarte importantă, sugerează o anemie posttraumatică în stadiu incipient (1-2 zile), înainte de a se stabili răspunsul regenerativ. Trombocitopenia este probabil consecința consumului de trombocite în procesul hemostatic. Determinarea albuminei plasmatice / a proteinei totale este utilă, este de așteptat să apară hipoalbuminemie, hipoproteinemie cu raport albumină : globulină nemodificat ca urmare a diluției sângelui. Acest pacient necesită o nouă analiză peste 2 zile, iar dacă nu se constată semne de răspuns regenerativ, diagnosticul ar trebui orientat spre altă direcție.

5.2. Rexi

Date de identificare: Câine, Ciobănesc german, 9 ani, Mascul
Anamneză: Melenă, mucoase palide, anorexia

	Valori	**Valori de referinţă**	**Unităţi de măsură**
Eritrograma			
Eritrocite totale	**4**	5.5-8.5	10^6/µL
Hb	**6.8**	12-18	g/dL
Hct	**22**	37-55	%
VEM	**55**	60-77	fL
HEM	**22.9**	19.5-24.5	pg
CHEM	**30.9**	32-36	g/dL
Ind anizocitoza	**23**		%
Reticulocite %	**1.2**	0-1	%
Ret. Conc.			
PRC			
Leucograma			
Leucocite total	**15.18**	6-17	10^3/µL
Neutrofile (ns)	**0**	0-3	(%)
Neutrofile (seg)	**61.87**	35-75	(%)
Eozinofile	**6**	2-10	(%)
Bazofile	**0**	0-0.5	(%)
Limfocite	**34.94**	20-55	(%)
Monocite	**3.18**	1-4	(%)
Leucocite total	**0**	0-0.3	10^3/µL
Neutrofile (ns)	**10.7**	3-11.4	10^3/µL
Neutrofile (seg)	**0.3**	0.1-0.75	10^3/µL
Eozinofile	**0**	rare	10^3/µL
Bazofile	**4**	1-4.8	10^3/µL
Limfocite	**0.2**	0-0.3	10^3/µL
Trombograma			
Trombocite total	**165**	200-900	10^3/µL

PCT	**0.2**		%
VPM	**12**	10-12	fL
Ind anizocitoză	**45**		
Biochimie serică			
Prot totale (ser).	**4.8**	5.4-7.5	g/dL
Albumina	**1.7**	2.3-3.1	g/dL
Raport A/G		0.6-1.1	

Răspuns:

Eritrograma: Hct este scăzut, dar între limita anemiei moderate (15-25%), astfel putem considera această anemie ca fiind moderată. VEM și CHEM sunt scăzute, Ind anizocitoză este mare, deci este o anemie microcitară, hipocromă cu anizocitoză. Procentul corectat de reticulocite este în intervalul normal. Pe baza acestor constatări, putem concluziona că este o anemie neregenerativă.

Leukograma arată valori normale.

Trombogramă: Trombocitopenie ușoară (peste 100.000 / μL), cu trombocite eterogene, de dimensiuni mari.

Albumina plasmatică şi proteina totală sunt scăzute, pacientul prezintă hipoalbuminemie, hipoproteinemie cu raport scăzut de albumină: globulină.

Diagnostic general:

Anemie microcitară, hipocromă, non-regenerativă sugerează o anemie feriprivă. Anamneza spune că pacientul este un câine adult, la pacienții adulți cauza cea mai probabilă este o hemoragie cronică, presupunere sugerată în continuare de anamneza care indică o hemoragie digestivă. Anisocitoza și un anumit grad de eritropoieză a măduvei osoase indică în continuare hemoragia cronică ca o posibilă cauză a anemiei. Trombocitopenia ușoară, cu număr mare de trombocite eterogene, sugerează un consum de trombocite cu răspuns regenerativ al măduvei osoase. Valoarea scăzută a albuminei plasmatice și a proteinei totale cu disproteinemie sugerează o pierdere intensă a proteinelor plasmatice, probabil ca rezultat al hemoragiei. În acest caz, sunt necesare investigații suplimentare pentru a identifica locația și cauza hemoragiei.

5.3. Bella

Date de identificare: Câine, Beagle, 14 ani, Femelă
Anamneză: Hemoglobinurie, icter
Semne clinice: Febră, letargie,

	Valori	**Valori de referinţă**	**Unităţi de măsură**
Eritrograma			
Eritrocite totale	**2.38**	5.5-8.5	10^6/µL
Hb	**3.7**	12-18	g/dL
Hct	**11.36**	37-55	%
VEM	**56**	60-77	fL
HEM	**23.5**	19.5-24.5	pg
CHEM	**37.5**	32-36	g/dL
Ind anizocitoza	**33.6**		%
Reticulocite %	**11**	0-1	%
Ret. Conc.			
PRC			
Modificări morfologice	Incluzii Howell-Jolly, anizocitoză, metarubricite, incluziuni multiple intra-eritrocitare de culoare albastru deschis de forma unor seminţe de măr (lacrimă)		
Leucograma			
Leucocite total	**19.25**	6-17	10^3/µL
Neutrofile (ns)	**4**	0-3	(%)
Neutrofile (seg)	**85.6**	35-75	(%)
Eozinofile	**1.5**	2-10	(%)
Bazofile	**0**	0-0.5	(%)
Limfocite	**3.7**	20-55	(%)
Monocite	**5.2**	1-4	(%)
Leucocite total	**0.9**	0-0.3	10^3/µL
Neutrofile (ns)	**16.24**	3-11.4	10^3/µL
Neutrofile (seg)	**0.29**	0.1-0.75	10^3/µL
Eozinofile	**0.01**	rare	10^3/µL
Bazofile	**1.21**	1-4.8	10^3/µL

Limfocite	**1.45**	0-0.3	10^3/µL
Trombograma			
Trombocite total	**29**	200-900	10^3/µL
PCT	**0.02**		%
VPM	**6.9**	10-12	fL
Ind anizocitoză	**31.4**		
Biochimie serică			
Azot ureic	**74**	8-28	mg/dL
Prot totale (ser).	**6.8**	5.4-7.5	g/dL
Bilirubină	**0.8**	0.1-0.5	g/dL

Răspuns:

Eritrograma: Hct este scăzut, sub limita anemiei moderate (15%), astfel putem considera această anemie ca fiind severă. VEM este normal și CHEM este mare, Ind anizocitoză este mare, deci este o anemie normocitară cu anisocitoză. MCHC crescută sugerează fenomene de hemoliză intravasculară *in vivo* sau după prelevarea de probe de sânge. În acest caz, datele clinice - hemoglobinuria, arătă o hemoliză intravasculară (sau mixtă). Corectarea procentului de reticulocite este semnificativ mai mare decât limita normală, caracteristicile morfologice, cum ar fi incluziunile Howell-Joly, anisocitoza și metarubricitele, sunt argumente suplimentare ale anemiei regenerative.

Leucograma arată leucocitoză, pe baza fracției de neutrofile (neutrofilia), cu creşterea concentraţiei neutrofilelor nesegmentate. Toate acestea sunt trăsături comune ale leucogramei inflamatorii.

Trombograma: trombocitopenie severă (sub 50.000 / µL), și pe baza caracteristicilor hematologice prezentate anterior, putem presupune că se datorează mai degrabă distrugerii / consumului decât sintezei reduse.

Biochimia plasmei a prezentat un nivel ridicat de azot ureic, sugerând o insuficiență renală. Proteinele totale se încadrează în intervalul normal, bilirubina este crescută reconfirmând icterul.

Diagnostic general:

Incluziunile intraeritrocitare, pereche, de culoare albastru deschis, în formă de semințe de măr (lacrimi) denotă prezența infecției cu *Babesia canis*. Paraziți distrug hematiile prin liză rezultând hemoglobinemie și, dacă liyza este severă, hemoglobinurie. Hemoglobinuria poate duce la leziuni acute ale rinichilor (necroză tubulară), prin mai multe mecanisme. Unul este efectul toxic direct al fierului din hemoglobină asupra tubilor renali, al doilea este umplerea și blocarea filtrului glomerular. Necroza tubulară duce la insuficiencţă renală acută manifestată în planul biochimiei plasmatice prin niveluri ridicate ale azotului ureic și creatininei. Dar, hematiile infectate sunt reținute în principal de splină, splina având o funcție esențială în limitarea infecției parazitare prin reținerea hematiilor contaminate. Astfel apare o hemoliză intrasplenică (extravasculară) semnificativă. În cele din urmă, atât hemoliza intravasculară cât şi extravasculară conduc la anemie severă, foarte regenerativă și icter (hiperbilirubinemie).

Leukograma inflamatorie este un efect direct al infecției cu paraziți, în timp ce trombocitopenia este, de asemenea, frecvent întâlnită la pacienții infectați cu *Babesia spp*. Explicația cea mai frecvent acceptată este hipersplenismul. Pe de altă parte, numărul trombocitelor trebuie verificat cu atenție pe frotiul de sânge, deoarece animalele supuse unor afecțiuni inflamatorii pot avea o cantitate mare de trombocite aglutinate care ar putea fi ignorate de analizoarele automate.

5.4. Dolly

Date de identificare: Câine, Golden retriever, 4 ani, Femelă
Anamneză: apatie
Semne clinice: hemoglobinurie

	Valori	**Valori de referinţă**	**Unităţi de măsură**
Eritrograma			
Eritrocite totale	**0.97**	5.5-8.5	10^6/µL
Hb	**3.4**	12-18	g/dL
Hct	**7.19**	37-55	%
VEM	**74**	60-77	fL
HEM	**34.9**	19.5-24.5	pg
CHEM	**46.9**	32-36	g/dL
Ind anizocitoza	**17.9**		%
Reticulocite %	**12**	0-1	%
Ret. Conc.			
PRC			
Modificări morfologice	Incluzii Howell-Jolly, anizocitoză, metarubricite,, sferocite		
Leucograma			
Leucocite total	**19.99**	6-17	10^3/µL
Neutrofile (ns)	**3.85**	0-3	(%)
Neutrofile (seg)	**62.18**	35-75	(%)
Eozinofile	**1.45**	2-10	(%)
Bazofile	**0.15**	0-0.5	(%)
Limfocite	**23.51**	20-55	(%)
Monocite	**8.85**	1-4	(%)
Leucocite total	**0.77**	0-0.3	10^3/µL
Neutrofile (ns)	**12.43**	3-11.4	10^3/µL
Neutrofile (seg)	**0.29**	0.1-0.75	10^3/µL
Eozinofile	**0.03**	rare	10^3/µL
Bazofile	**4.7**	1-4.8	10^3/µL
Limfocite	**1.77**	0-0.3	10^3/µL

Trombograma			
Trombocite total	**89**	200-900	$10^3/\mu L$
PCT	**0.08**		%
VPM	**11**	10-12	fL

Răspuns:

Eritrograma: Hct este scăzut, sub limita anemiei moderate (15%), astfel putem considera această anemie ca fiind severă. VEM este normal și CHEM este crescut, ind anizocitoză este mare, deci este o anemie normocitară cu anisocitoză. CHEM crescut sugerează fenomene de hemoliză intravasculară in vivo sau după prelevarea de probe de sânge. În acest caz, datele clinice - hemoglobinuria, denotă hemoliză intravasculară (sau mixtă). După corectare, procentul de reticulocite este semnificativ mai mare decât limita normală, caracteristicile morfologice, cum ar fi incluziunile Howell-Joly, anisocitoza și prezenţa metarubricitelor, sunt argumente suplimentare ale anemiei regenerative.

Leucograma arată numărul crescut de leucocitoză (leucocitoză), pe baza fracției de neutrofile (neutrofilie), cu prezenţa formelor tinere. Toate acestea sunt trăsături comune ale leucogramei inflamatorii.

Trombograma: trombocitopenie severă (sub 50.000 / μL), corelată cu celelalte aspecte hematologice, putem presupune că se bazează mai degrabă pe distrugere / consum decât pe sinteză redusă.

Diagnostic general:

Sferocitoza se găsește frecvent în anemia hemolitică autoimună (AHAI). Anticorpii antieritrocitari generați ca urmare a expunerii antigenelor eritrocitare pot conduce la aglutinare și hemoliză intravasculară, dar pot duce și la opsonizarea hematiilor și retenția lor de către macrofagele splenice.

Unele celule, care scapă de fagocitoză, pot pierde doar o bucată de citoplasmă rezultând o formă sferică. Evident, diagnosticul de AHAI nu se poate face numai pe baza prezenței sferocitelor, ci ar trebui să fie confirmată prin testul Coombs direct (cunoscut și ca testul antiglobulinic direct sau DAT).

Modificările leucogramei sunt un efect direct al hemolizei și al declanșării reacției inflamatorii prin răspunsul autoimun, în timp ce trombocitopenia este, de asemenea, frecvent întâlnită în AHAI. Cea mai acceptată ipoteză este prezența anticorpilor antiplachetari, care elimină trombocitele în mod similar cu cei antieritrocitari. Pe de altă parte, numărul trombocitelor trebuie verificat cu atenție pe frotiul de sânge, deoarece animalele supuse unor afecțiuni inflamatorii pot avea unnumăr mare de trombocite aglutinate care ar putea fi ignorate de analizoarele automate.

5.5. Pisy

Date de identificare: Pisică, 4 ani, Rasa comună, Femelă, nesterilizată
Semne clinice: Letargie, anorexie

	Valori	**Valori de referinţă**	**Unităţi de măsură**
Eritrograma			
Eritrocite totale	**3.7**	5-10	10^6/µL
Hb	**5.8**	8-15	g/dL
Hct	**18.79**	30-45	%
VEM	**51**	39-55	fL
HEM	**15.8**	13-17	pg
CHEM	**31.1**	30-36	g/dL
Ind anizocitoza	**19.8**		%
Reticulocite %	**0.3**	0-0.4	%
Ret. Conc.			
PRC			
Leucograma			
Leucocite total	**2.34**	5.5-19.5	10^3/µL
Neutrofile (ns)	**0**	0-2	(%)
Neutrofile (seg)	**67.4**	45-64	(%)
Eozinofile	**4**	1-8	(%)
Bazofile	**0**	0-3	(%)
Limfocite	**24.7**	20-55	(%)
Monocite	**3.8**	1-3	(%)
Leucocite total	**0**	0-0.3	10^3/µL
Neutrofile (ns)	**1.58**	2.5-12.5	10^3/µL
Neutrofile (seg)	**0.09**	0.1-0.75	10^3/µL
Eozinofile	**0**	rare	10^3/µL
Bazofile	**0.58**	1.5-7	10^3/µL
Limfocite	**0.09**	0-0.85	10^3/µL
Trombograma			
Trombocite total	**78**	300-700	10^3/µL

PCT	**0.11**		
VPM	**14.3**	12-17	fl
Biochimie serică			
Prot totale (ser).	**5.8**	6-7.9	g/dL
Albumina	**2.1**	2.8-3.9	g/dL
Raport A/G		0.6-1.1	

Răspuns:

Eritrograma: Hct este scăzut sub limita anemiei moderate (25%), astfel putem considera această anemie ca fiind moderată. VEM și CHEM se află în limitele normale, precum și Ind anizocitoză, astfel este o anemie normocitară, noromocromă fără anizocitoză. Procentul de reticulocite este în intervalul normal, astfel că nu are sens să se calculeze procentul corectat de reticulocite. Pe baza acestor constatări, putem concluziona că nu există semne de anemie regenerativă.

Leucograma prezintă un număr scăzut de leucocite (leucopenie), cu concentrații scăzute de neutrofile (neutropenie) și cu absenţa formelor tinere. Eozinofilele sunt, de asemenea, foarte scăzute (eozinopenie), - agranulocitoză (o reducere globală a leucocitelor granulare). Aceasta sugerează o agranulopoeză mai degrabă decât un consum intens de leucocite. În mod special limfocitele sunt de asemenea scăzute, în acest poate fi lut în calcul atât stresul, cât și inhibarea măduvei osoase.

Trombogramă: Trombocitopenie ușoară (peste 100.000 / μL), cu dimensiuni normale, plachete omogene, sugerează că acest nivel de trombocitopenie nu poate fi cauzat de hemoragie, dar nu atinge un nivel critic pentru a provoca petechii sau purpura.

Diagnostic general: În acest caz, anemia non-regenerativă, asociată cu agranulocitoza aplastică și trombocitopenia, sugerează puternic o aplazie a măduvei osoase ireversibile urmată de pancitopenie. În plus, trebuie stabilită cauza aplasiei măduvei osoase.

5.6. Tuck

Date de identificare: Câine, Boxer, 5 ani, Femelă
Anamneză: Vomă

	Valori	**Valori de referinţă**	**Unităţi de măsură**
Eritrograma			
Eritrocite totale	9.17	5.5-8.5	10^6/µL
Hb	19.1	12-18	g/dL
Hct	58.25	37-55	%
VEM	63.52	60-77	fL
HEM	20.82	19.5-24.5	pg
CHEM	33.78	32-36	g/dL
Ind anizocitoza	16.9		%
Reticulocite %	0.7	0-1	%
Ret. Conc.			
PRC			
Leucograma			
Leucocite total	9.01	6-17	10^3/µL
Neutrofile (ns)	2.17	0-3	(%)
Neutrofile (seg)	76.65	35-75	(%)
Eozinofile	3.14	2-10	(%)
Bazofile	0.98	0-0.5	(%)
Limfocite	12.70	20-55	(%)
Monocite	2.22	1-4	(%)
Leucocite total	0.2	0-0.3	10^3/µL
Neutrofile (ns)	7.06	3-11.4	10^3/µL
Neutrofile (seg)	0.29	0.1-0.75	10^3/µL
Eozinofile	0.09	rare	10^3/µL
Bazofile	1.17	1-4.8	10^3/µL
Limfocite	0.2	0-0.3	10^3/µL
Trombograma			
Trombocite total	357	200-900	10^3/µL

PCT	0.34		%
VPM	9.5	10-12	fL
Ind anizocitoză	37.7		
Biochimie serică			
Azot ureic	36	8-28	mg/dL
Creatinină	1.5	0.5-1.7	mg/dL
Prot totale (ser).	7.8	5.4-7.5	g/dL
Albumina	3.4	2.3-3.1	g/dL
Raport A/G		0.6-1.1	
Fibrinogen	186	150-300	mg/dL

Răspuns:

Eritrograma: Hct este mare (policitemie). Albumina este crescută, așadar putem considera că anemia este cauzată de concentrarea hematocritului ca rezultat al deshidratării severe. În consecință, proteina totală este de asemenea ridicată, dar avem o cantitate conservată de albumină: rația de globulină susținând în plus policitemia relativă.

Leukograma nu prezintă modificări.

Trombogramă: în intervalul normal.

Diagnostic general: În acest caz, toate modificările hematologice şi ale biochimiei plasmatice pot fi satisfăcător explicate prin deshidratare urmată de hemoconcentrație. Diminuarea volumului circulator al sângelui poate duce la insuficiență renală prerenală. În această etapă timpurie, rata de filtrare glomerulară nu este încă diminuată, așa cum se sugerează prin valorile normale ale creatininei, dar resorbția intensă a apei de către tubulii renale conduce la creșterea resorbției ureei și, în consecință, la creșterea azotului ureic. Nu este prezentă nicio reacție inflamatorie, așa cum arată leucograma normală, fibrinogenul și raportul normal al albuminei: globulină.

În acest caz trebuie să se stabilească cauza vărsăturilor / sau alte cauze posibile de deshidratare.

5.7. Elvis

Date de identificare: Câine, Tekel, 12 ani, Mascul

Anamneză: Tuse în special pe timpul nopţii,

	Valori	**Valori de referinţă**	**Unităţi de măsură**
Eritrograma			
Eritrocite totale	8,7	5.5-8.5	10^6/µL
Hb	18,5	12-18	g/dL
Hct	57	37-55	%
VEM	65.51	60-77	fL
HEM	21.26	19.5-24.5	pg
CHEM	32.45	32-36	g/dL
Ind anizocitoza	13.8	12-16	%
Reticulocite %	0.4	0-1	%
Ret. Conc.			
PRC			
Leucograma	8.4	6-17	10^3/µL
Leucocite total	2	0-3	(%)
Neutrofile (ns)	67	35-75	(%)
Neutrofile (seg)	2	2-10	(%)
Eozinofile	0	0-0.5	(%)
Bazofile	28	20-55	(%)
Limfocite	1	1-4	(%)
Monocite	0.17	0-0.3	10^3/µL
Leucocite total	5.63	3-11.4	10^3/µL
Neutrofile (ns)	0.17	0.1-0.75	10^3/µL
Neutrofile (seg)	0	rare	10^3/µL
Eozinofile	2.35	1-4.8	10^3/µL

Bazofile	0.08	0-0.3	$10^3/\mu L$
Limfocite			
Trombograma	425	200-500	$10^3/\mu L$
Trombocite total	0.35	0.15-0.38	%
PCT	10.5	10-12	fL
VPM	65	51-73	%
Biochimie serică			
Prot totale (ser).	6.5	5.4-7.5	g/dL
Albumina	2.9	2.3-3.1	g/dL
Raport A/G		0.6-1.1	

Răspuns:

Eritrograma: Hct este crescut (policitemie). Albumina este în valori normale, astfel încât excludem hemoconcentrația ca o cauză posibilă. În plus, leucograma normală exclude răspunsul de de excitaţie simpatică. În consecinţă, este probabil să fie o policitemie absolută.

Leukograma nu prezintă modificări.

Trombogramă: în intervalul normal.

Diagnostic general: Policemia absolută poate fi cauzată de hipoxemia cronică (cel mai frecvent, cauzată de insuficiența cardiacă sau respiratorie), mai rar se datorează creșterea sintezei eritropoietinei cauzată de diverşi factori sau *policitemia vera*.

În acest caz, pe baza anamnezei, acest pacient ar trebui să fie cercetat mai întâi în direcția tulburărilor cardiace; semnele sugerează o posibilă insuficiență de cardiacă stânga cu congestive şi edem pulmonar.

5.8. Rex

Date de identificare:: Câine, Canish, 2 ani, Mascul
Anamneză: Anxietate de separare

	Valori	**Valori de referinţă**	**Unităţi de măsură**
Eritrograma			
Eritrocite totale	**5.4**	5.5-8.5	10^6/µL
Hb	**12.1**	12-18	g/dL
Hct	**36.8**	37-55	%
VEM	**72**	60-77	fL
HEM	**24.1**	19.5-24.5	pg
CHEM	**33.4**	32-36	g/dL
Ind anizocitoza	**15.6**		%
Reticulocite %	**0.1**	0-1	%
Ret. Conc.			
PRC			
Leucograma			
Leucocite total	**18.98**	6-17	10^3/µL
Neutrofile (ns)	**0**	0-3	(%)
Neutrofile (seg)	**91.62**	35-75	(%)
Eozinofile	**0**	2-10	(%)
Bazofile	**0**	0-0.5	(%)
Limfocite	**1.00**	20-55	(%)
Monocite	**7.37**	1-4	(%)
Leucocite total	**0**	0-0.3	10^3/µL
Neutrofile (ns)	**17.39**	3-11.4	10^3/µL
Neutrofile (seg)	**0**	0.1-0.75	10^3/µL
Eozinofile	**0**	rare	10^3/µL
Bazofile	**0.19**	1-4.8	10^3/µL
Limfocite	**1.4**	0-0.3	10^3/µL
Trombograma			
Trombocite total	**273**	200-900	10^3/µL
PCT	**0.28**		%

VPM	**1.3**	10-12	fL
Ind anizocitoză	**40.4**		

Răspuns:

Eritrograma: nu arată modificări.

Leucograma arată leucocitoză, cu concentrație mare de neutrofile (neutrofilie) și absenţa neutrofilelor segmentate. Eozinofilele sunt de asemenea absente (eozinopenie), în special limfocitele sunt de asemenea scăzute. Acest tipar se suprapune cu un răspuns clasic la cortizol cunoscut și ca leucogramă de stres.

Trombogramă: în intervalul normal.

Diagnostic general: În acest caz leukograma de stres este singura modificare decelabilă. Aceasta poate fi cauzată de stres, hipercoticism (sindromul Cushing), terapie cu corticosteroizi. În acest caz putem presupune că stresul este asociat anxietăţii de separe.

5.9. Tommy

Date de identificare: Pisică, Mascul necastrat, 4 years, rasa comună
Anamneză: Cădere de pe balcon
Semne clinice: Şchiopătură

	Valori	Valori de referinţă	Unităţi de măsură
Eritrograma			
Eritrocite totale	**10.5**	5-10	10^6/µL
Hb	**15.9**	8-15	g/dL
Hct	**46**	30-45	%
VEM	**43.81**	39-55	fL
HEM	**15.14**	13-17	pg
CHEM	**34.56**	30-36	g/dL
Ind anizocitoza	**18.5**		fL
Reticulocite %	**0.3**	0-0.4	%
Ret. Conc.			
PRC			
Leucograma			
Leucocite total	**23.74**	5.5-19.5	10^3/µL
Neutrofile (ns)	**0.84**	0-2	(%)
Neutrofile (seg)	**58.97**	45-64	(%)
Eozinofile	**2.69**	1-8	(%)
Bazofile	**0.42**	0-3	(%)
Limfocite	**34.96**	20-55	(%)
Monocite	**2.11**	1-3	(%)
Leucocite total	**0.2**	0-0.3	10^3/µL
Neutrofile (ns)	**14**	2.5-12.5	10^3/µL
Neutrofile (seg)	**0.64**	0.1-0.75	10^3/µL
Eozinofile	**0.10**	rare	10^3/µL
Bazofile	**8.3**	1.5-7	10^3/µL
Limfocite	**0.5**	0-0.85	10^3/µL

Trombograma			
Trombocite total	**62**	300-700	10^3/µL
PCT	**0.28**		
VPM	**16**	12-17	fl
Biochimie serică			
Azot ureic	**26**	19-34	mg/dL
Prot totale (ser).	**7.5**	6-7.9	g/dL
Albumina	**3.2**	2.8-3.9	g/dL
Raport A/G		0.6-1.1	
AST	**26**	7-38	U/L
Glucoză	**246**	60-120	mg/dL

Răspuns:

Eritrograma: Hct este crescut (policitemie). Albumina este normală, (proteină totală normal, raportul albumină: globulină nemodificat), astfel putem exclude hemoconcentrația.

Leucograma arată număr crescut de leucocite (leucocitoză), pe baza fracțiunii de neutrofile (neutrofilie), fără o creştere a neutrofilelor tinere. Limfocitele sunt de asemenea crescute. Toate acestea sunt trăsături comune ale leucogramei de răspuns adrenergic (fugă sau luptă).

Trombograma: Se observat trombocitopenie, dar la pisici, numărul de trombocite trebuie verificat cu atenție pe frotiul de sânge, deoarece pisicile au hematii mici și trombocite mari care pot scăpa neidentificate de analizoarele automate de tip Coulter.

Diagnostic general: În acest caz, leucograma *de fugă sau luptă* ne arată că şi policitemia ar putea fi, de asemenea, o consecință a răspunsului adrenergic. Hiperglicemia, singura anomalie din biochimia plasmatică, poate fi, de asemenea, o consecință a creșterii tonusului simpatic.

5.10. Miţi

Date de identificare:
Pisică, Rasa Europeană cu păr scurt , 5 ani, Mascul necastrat
Semne clinice: Vomă, febră, anorexie

	Valori	**Valori de referinţă**	**Unităţi de măsură**
Eritrograma			
Eritrocite totale	**11**	5-10	10^6/µL
Hb	**16**	8-15	g/dL
Hct	**48**	30-45	%
VEM	**51.6**	39-55	fL
HEM	**17.1**	13-17	pg
CHEM	**35**	30-36	g/dL
Ind anizocitoza	**17.6**		%
Reticulocite %	**0.3**	0-0.4	%
Ret. Conc.			
PRC			
Leucograma			
Leucocite total	**28**	5.5-19.5	10^3/µL
Neutrofile (ns)	**23**	0-2	(%)
Neutrofile (seg)	**67**	45-64	(%)
Eozinofile	**2**	1-8	(%)
Bazofile	**0**	0-3	(%)
Limfocite	**6**	20-55	(%)
Monocite	**2**	1-3	(%)
Leucocite total	**2.31**	0-0.3	10^3/µL
Neutrofile (ns)	**20.81**	2.5-12.5	10^3/µL
Neutrofile (seg)	**0.11**	0.1-0.75	10^3/µL
Eozinofile	**0**	rare	10^3/µL
Bazofile	**5.34**	1.5-7	10^3/µL
Limfocite	**0.31**	0-0.85	10^3/µL
Trombograma			
Trombocite total	**40**	300-700	10^3/µL

PCT	**0.35**		
VPM	**12**	12-17	fl
Serum Chemistry			
Azot ureic	**38**	19-34	mg/dL
Prot totale (ser).	**9.6**	6-7.9	g/dL
Albumina	**4.3**	2.8-3.9	g/dL
Raport A/G		0.6-1.1	
Fibrinogen	**456**	150-300	mg/dL

Răspuns:

Eritrograma: Hct este crescut (policitemie). Albumina este crescută, astfel putem considera că anemia este cauzată de hemoconcentrarea ca urmare a deshidratării severe. Proteina totală este de asemenea ridicată, dar avem un raport scăzut albumină: globulină, care arată că modificările proteinelor din plasmă nu sunt cauzate în întregime de deshidratare.

Leucograma denotă leucocitoză, pe baza fracției de neutrofile (neutrofilia) cu predominața neutrofilelor tinere. Toate acestea sunt trăsături comune ale leucogramei inflamatorii.

Trombogrma: trombocitopenie severă (sub 50 000 / μL), totuși, numărul de trombocite trebuie verificat cu atenție pe frotiul de sânge, deoarece animalele supuse unor afecțiuni inflamatorii pot avea o cantitate mare de trombocite aglutinate care ar putea fi ignorate de analizoarele automate bazate pe Colter.

Biochimia plasmei a prezentat hiperproteinemie, cu o scăderea raportului albumină: globulină, care asociată cu niveluri ridicate de fibrinogen denotă un răspuns inflamator sitemic. Azotul ureic crescut denotă insuficiență renală.

Diagnostic general:

Leukograma inflamatorie, în asociere cu hiperproteinemia cu disproteinemie și nivelurile ridicate de fibrinogen denotă un sindrom inflamator sistemic. Policemia este o consecință a deshidratării, probabil ca urmare a vărsăturilor și a febrei. Hipovolemia este asociată frecvent cu insuficiența renală de tip prerenal.

.

5.11. Lady

Date de identificare: Câine, Rottweiler, 7 luni, Femelă
Anamneză: anorexie
Semne clinice: febră, mucoase cenuşii, alterarea severă a stării generale

	Valori	**Valori de referinţă**	**Unităţi de măsură**
Eritrograma			
Eritrocite totale	5.55	5.5-8.5	10^6/µL
Hb	12.1	12-18	g/dL
Hct	37.78	37-55	%
VEM	68	60-77	fL
HEM	21.80	19.5-24.5	pg
CHEM	32.02	32-36	g/dL
Ind anizocitoza	15.6		%
Reticulocite %	0.1	0-1	%
Ret. Conc.			
PRC			
Leucograma			
Leucocite total	1.65	6-17	10^3/µL
Neutrofile (ns)	24.24	0-3	(%)
Neutrofile (seg)	12.12	35-75	(%)
Eozinofile	3.63	2-10	(%)
Bazofile	1.21	0-0.5	(%)
Limfocite	56.36	20-55	(%)
Monocite	2.42	1-4	(%)
Leucocite total	0.4	0-0.3	10^3/µL
Neutrofile (ns)	0.2	3-11.4	10^3/µL
Neutrofile (seg)	0.06	0.1-0.75	10^3/µL
Eozinofile	0.02	rare	10^3/µL
Bazofile	0.93	1-4.8	10^3/µL
Limfocite	0.04	0-0.3	10^3/µL
Trombograma			

Trombocite total	749	200-900	10^3/µL
PCT	0.88		%
VPM	11.8	10-12	fL
Ind anizocitoză	44.2		
Biochimie serică			
Prot totale (ser).	6.4	5.4-7.5	g/dL
Albumina	2.5	2.3-3.1	g/dL
Raport A/G		0.6-1.1	
Fibrinogen	488	150-300	mg/dL

Răspuns

Eritrogram: Hct este aproape de limita inferioară, dar încă în intervalul normal.

Leucograma prezintă număr scăzut de leucocite (leucopenie), cu concentrație scăzută de neutrofile (neutropenie) și creşterea neutrofilelor tinere (deviere la stânga). Eozinofilele sunt, de asemenea, foarte scăzute (eozinopenie), o examinare morfologică suplimentară ar putea evalua vârsta eozinofilelor. Acestea sugerează un consum intens de neutrofile, care depășește rezerva medulară. Limfocitele sunt de asemenea scăzute, în acest caz atât stresul, cât și inhibarea măduvei osoase sunt ipoteze rezonabile.

Trombogramă: în intervalul normal.

Diagnostic general: În acest caz, leucopenia este cauzată mai degrabă de consumul intens, de sepsis / toxemie severă.

5.12. Arthur

Date de identificare::Căine, Ciobănesc Belgian Malinois, 7 ani, Mascul
Anamneză: slăbire, inapetenţă
Semne clinice: Febră moderată, caşexie

	Valori	**Valori de referinţă**	**Unităţi de măsură**
Eritrograma			
Eritrocite totale	4.81	5.5-8.5	10^6/µL
Hb	10.91	12-18	g/dL
Hct	32	37-55	%
VEM	66.52	60-77	fL
HEM	22.68	19.5-24.5	pg
CHEM	34.09	32-36	g/dL
Ind anizocitoza	15.3		%
Reticulocite %	0.6	0-1	%
Ret. Conc.			
PRC			
Leucograma			
Leucocite total	63.09	6-17	10^3/µL
Neutrofile (ns)	10.98	0-3	(%)
Neutrofile (seg)	81.10	35-75	(%)
Eozinofile	0.42	2-10	(%)
Bazofile	0.11	0-0.5	(%)
Limfocite	2.01	20-55	(%)
Monocite	5.36	1-4	(%)
Leucocite total	6.93	0-0.3	10^3/µL
Neutrofile (ns)	51.16	3-11.4	10^3/µL
Neutrofile (seg)	0.27	0.1-0.75	10^3/µL
Eozinofile	0.07	rare	10^3/µL
Bazofile	1.27	1-4.8	10^3/µL
Limfocite	3.38	0-0.3	10^3/µL
	Metamyelocytes		
Trombograma			

Trombocite total	318	200-900	$10^3/\mu L$
PCT	0.37		%
VPM	11.5	10-12	fL
Ind anizocitoză	42.4		
Biochimie serică			
Azot ureic	25	8-28	mg/dL
Prot totale (ser).	8.1	5.4-7.5	g/dL
Albumina	2.9	2.3-3.1	g/dL
Raport A/G		0.6-1.1	
AST	15	13-15	U/L
Fibrinogen	422	150-300	mg/dL

Răspuns:

Eritrograma: Hct este scăzut peste limita anemiei moderate (25%), astfel putem considera această anemie ca fiind ușoară. VEM, CHEM și ind anizocitoză se află în limitele normale, astfel este o anemie normocitotică, noromochromică fără anizocitoză. Procentul de reticulocite este în intervalul normal, astfel că nu are sens să se calculeze procentul corectat de reticulocite. Pe baza acestor constatări, putem concluziona că nu există semne de anemie regenerativă.

Leucograma arată numărul extrem de ridicat de leucocite (leucocitoză), pe baza fracțiunii de neutrofile (neutrofilie), cu creşterea concentraaţiei neutrofilelor tinere (indice Arneth deviat spre stânga). Toate acestea sunt trăsături comune ale leucogramei inflamatorii, dar în plus, sunt remarcate și neutrofilele imature pe frotiul de sânge (metamelocite). *Trombogramă*: în intervalul normal.

Biochimia plasmei a prezentat o proteină totală crescută, cu scăderea raportului albumină: globulină, asociată cu niveluri ridicate de fibrinogen.

Diagnostic general:

Leukograma inflamatorie, în asociere cu hiperproteinemia cu disproteinemie și nivelurile ridicate de fibrinogen sugerează un sindrom de inflamator sistemic, dar leucocitoza intensă cu neutrofile imature sunt caracteristice prezente și în *leucemia cronică granulocitară* (LCG). În cazul absenței oricărui indicator al afecțiunii inflamatorii cronice, pacientul este suspect de LCG, este necesar examenul citologic măduvei osoase pentru a confirma diagnosticul. Dacă se identifică sursa inflamației, leucograma inflamatorie este cunoscută sub denumirea de *reacție leucemoidă*. Anemia este un rezultat probabil al unei afecțiuni inflamatorii cronice, cunoscută ca anemia asociată bolilor cornice, s-au în cazul în care se confirm LCG, se datorează cel mai probabil invaziei medulare de către celule tumorale.

5.13. Toby

Date de identificare: Câine, Fox terrier 3 luni, Mascul
Anamneză: Diaree, vomă, inapetenţă, începute cu două zile în urmă.
Semne clinice: Diaree hemoragică, deshidratare, mucoase palide.

	Valori	**Valori de referinţă**	**Unităţi de măsură**
Eritrograma			
Eritrocite totale	4.2	5.5-8.5	10^6/µL
Hb	9	12-18	g/dL
Hct	27	37-55	%
VEM	64.28	60-77	fL
HEM	21.42	19.5-24.5	pg
CHEM	33.33	32-36	g/dL
Ind anizocitoza	14.9	12-16	%
Reticulocite %	0.8	0-1	%
Ret. Conc.			
PRC			
Leucograma	4.2	6-17	10^3/µL
Leucocite total	0.95	0-3	(%)
Neutrofile (ns)	73.09	35-75	(%)
Neutrofile (seg)	0.95	2-10	(%)
Eozinofile	0	0-0.5	(%)
Bazofile	20.95	20-55	(%)
Limfocite	4.04	1-4	(%)
Monocite	0.04	0-0.3	10^3/µL
Leucocite total	3.07	3-11.4	10^3/µL
Neutrofile (ns)	0.04	0.1-0.75	10^3/µL
Neutrofile (seg)	0	rare	10^3/µL
Eozinofile	0.88	1-4.8	10^3/µL
Bazofile	0.17	0-0.3	10^3/µL
Limfocite			
Trombograma	276	200-500	10^3/µL

Trombocite total	0.17	0.15-0.38	%
PCT	11.2	10-12	fL
VPM	56	51-73	%
Biochimie serică			
Prot totale (ser).	8	5.4-7.5	g/dL
Albumina	4.2	2.3-3.1	g/dL
Raport A/G		0.6-1.1	
Fibrinogen	522	150-300	mg/dL

Eritrograma: Hct este scăzut, peste limita anemiei moderate (25%), astfel putem considera această anemie ca fiind ușoară. VEM și CHEM se află în limitele normale, precum și Ind anizocitoză, astfel este o anemie normocitară, noromocrromă fără anizocitoză. Procentul de reticulocite este în intervalul normal, astfel că nu are sens să se calculeze procentul corectat de reticulocite. Pe baza acestor constatări, putem concluziona că nu există semne de anemie regenerativă.

Leukograma prezintă număr scăzut de leucocite (leucopenie), cu concentrație scăzută de neutrofile (neutropenie) și fără prezența formelor tinere. Eozinofilele sunt, de asemenea, scăzute (eozinopenie). Acestea sugerează agranulocitoză, cauzată de inhibarea măduvei osoase. Limfocitele sunt de asemenea scăzute, în acest caz atât stresul, cât și inhibarea măduvei osoase pot fi posibile cauze.

Trombogramă: în intervalul normal.

Biochimia plasmatică a arătat o creștere a albuminei și proteinelor totale, cu o un raport normal albumină: globulină și niveluri ridicate de fibrinogen.

Diagnostic general: În acest caz, leucopenia este cauzată de aplazia măduvei osoase. În plus, celelalte celule din sânge oferă o idee despre

severitatea inhibiției măduvei osoase. Trombocitele, cea de-a doua fracție celulară care scade după inhibarea maduvei osoase, sunt normale, astfel încât, în ciuda anemiei non-regenerative, inhibarea ireversibilă a măduvei osoase nu este cauza cea mai probabilă, de aceea leziunile reversibile ale măduvei osoase trebuie luate în considerare mai întâi. Pacientul este deshidratat semnificativ, astfel încât severitatea anemiei trebuie reconsiderată. Pe baza anamnezei, cea mai probabilă cauză a anemiei și a deshidratării este diareea hemoragică. Aspectul non-regenerativ al anemiei este probabil datorită faptului că răspunsul regenerativ nu a avut timp să se stabilească în cele două zile de la debut. În acest caz, infecția cu parvovirus este o cauză plauzibilă, parvovirusul fiind cunoscut că induce inhibarea tranzitorie a măduvei osoase, dar această ipoteză trebuie verificată prin analize suplimentare.

5.14. Ringo

Date de identificare:: Câine, Ciobănesc german, 8 ani, Femelă
Anamneză: slăbire progresivă

	Valori	**Valori de referinţă**	**Unităţi de măsură**
Eritrograma			
Eritrocite totale	4.5	5.5-8.5	10^6/µL
Hb	10	12-18	g/dL
Hct	33	37-55	%
VEM	74	60-77	fL
HEM	22.9	19.5-24.5	pg
CHEM	33.9	32-36	g/dL
Ind anizocitoza	18.9	12-16	%
Reticulocite %	3	0-1	%
Ret. Conc.			
PRC			
Leucograma	97.68	6-17	10^3/µL
Leucocite total	37	0-3	(%)
Neutrofile (ns)	0.2	35-75	(%)
Neutrofile (seg)	0.2	2-10	(%)
Eozinofile	0	0-0.5	(%)
Bazofile	55.4	20-55	(%)
Limfocite	3.4	1-4	(%)
Monocite	3.91	0-0.3	10^3/µL
Leucocite total	36.14	3-11.4	10^3/µL
Neutrofile (ns)	0.2	0.1-0.75	10^3/µL
Neutrofile (seg)	0	rare	10^3/µL
Eozinofile	54.11	1-4.8	10^3/µL
Bazofile	3.32	0-0.3	10^3/µL
Limfocite			
Trombograma	178	200-500	10^3/µL
Trombocite total	0.14	0.15-0.38	%

PCT	24	10-12	fL
VPM	75	51-73	%

Răspuns:

Eritrogramă: Hct este scăzut, dar peste limita anemiei moderate (25%), deci putem considera această anemie ca fiind ușoară. VEM și CHEM se situează într-un interval normal, dar ind anizocitoză este crescut, astfel c[este o anemie normocitară, noromocromă cu anisocitoză. Procentul corectat cu reticulocite este peste limita normală. Pe baza tuturor acestor date putem concluziona că există semen de anemie regenerativă.

Leucograma prezintă un număr mare de leucocite (leucocitoză), bazat pe o fracția neutrofilelor (neutrofilia), cu forme tinere (indice Arneth deviat spre stânga). Toate acestea sunt caracteristici comune ale leucogramei inflamatorii, dar în mod semnificativ, limfocitele sunt foarte crescute, mai mult de 10000 / µl, astfel încât acest pacient trebuie considerat suspect de *leucemie limfocitară cronică* (LLC).

Trombograma: trombocitele sunt mici, dar de dimensiuni mari.

Diagnosticul general:

Acest pacient trebuie investigat pentru LLC, pe baza analizei frotiei de sânge, ecografie etc. Anemia regenerativă, trombocitopenia cu trombocite de dimensiuni mari pot fi consecința unei hiperfuncții splenice, în timp ce leucograma inflamatorie nu este necesar asociat cu LLC.

5.15. Pity

Date de identificare: Câine, Pincher, 6 luni, Mascul
Semne clinice: hemartroză, hematom

	Valori	**Valori de referinţă**	**Unităţi de măsură**
Erythrogram			
RBCs	**3.59**	5.5-8.5	10^6/µL
Hb	**9**	12-18	g/dL
Hct	**27**	37-55	%
MCV/VEM	**75.20**	60-77	fL
MCH/HEM	**25.06**	19.5-24.5	pg
MCHC/CHEM	**33.33**	32-36	g/dL
RDWs	**18.9**		%
Reticulocytes %	**4.7**	0-1	%
RC-CR			
CRP-PRC			
Leukogram			
WBCs count	**15.79**	6-17	10^3/µL
Bands	**1.26**	0-3	(%)
Segmented	**74.66**	35-75	(%)
Eosinophils	**0.63**	2-10	(%)
Basophiles	**0**	0-0.5	(%)
Lymphocyte	**15.20**	20-55	(%)
Monocytes	**8.23**	1-4	(%)
Bands	**0.2**	0-0.3	10^3/µL
Segmented	**11.79**	3-11.4	10^3/µL
Eosinophils	**0.1**	0.1-0.75	10^3/µL
Basophiles	**0**	rare	10^3/µL
Lymphocyte	**2.4**	1-4.8	10^3/µL
Monocytes	**1.3**	0-0.3	10^3/µL
Thrombogram			
PLT	**365**	200-900	10^3/µL

PCT	**0.36**		%
MPV	**12**	10-12	fL
PDWc	**45**		
Biochimie serică			
Prot totale (ser).	**5**	5.4-7.5	g/dL
Albumina	**2.2**	2.3-3.1	g/dL
Raport A/G		0.6-1.1	
TPTA (aPTT)	**321**	72-102	sec
TP (PT)	**12**	11-14	Sec
Fibrinogen	**270**	150-300	mg/dL

Răspuns:

Eritrogramă: Hct este scăzut, dar peste limita anemiei moderate (25%), deci putem considera această anemie ca fiind ușoară. MCV și MCHC sunt normale, indicele de anizocitoză și procentul reticulocitar corectat sunt crescute, deci este o anemie normocitară cu anizocitoză, cu semen de regenerare medulară. Determinarea albuminei plasmatice şi a proteinei totale ne arată hipoalbuminemia, hipoproteinemia cu albumină cu memnţinerea raportului albumin : globulină ca urmare a diluării sângelui, sugerează o posibilă anemie hemoragică. Aceste date sunt în combinație cu anamneza care indică o hemoragie internă semnificativă.

Leucograma și *trombograma* prezintă valori normale. .

Coagulograma: TPTA prelungit semnificativ, în timp ce TP rămâne în limitele normale, sugerează o modificare selectivă a căii intrinseci a coagulării. Aceasta apare în afecțiuni moștenite ca hemofilia A / B sau boala von Willebrand. Testul funcției trombocitelor poate fi util pentru diferențierea lor. Alterarea funcției de coagulare explică hemoragia semnificativă și, prin urmare, anemia.

5.16. Linda

Date de identificare: Câine, Pointer, 9 ani, Femelă
Semne clinice: Caşexie, ascită

	Valori	**Valori de referinţă**	**Unităţi de măsură**
Eritrograma			
Eritrocite totale	4,9	5.5-8.5	10^6/µL
Hb	13	12-18	g/dL
Hct	34	37-55	%
VEM	74	60-77	fL
HEM	22,9	19.5-24.5	pg
CHEM	33,9	32-36	g/dL
Ind anizocitoza	12,9	12-16	%
Reticulocite %	0,7	0-1	%
Ret. Conc.			
PRC			
Leucograma	15	6-17	10^3/µL
Leucocite total	2	0-3	(%)
Neutrofile (ns)	79	35-75	(%)
Neutrofile (seg)	1	2-10	(%)
Eozinofile	0	0-0.5	(%)
Bazofile	16	20-55	(%)
Limfocite	2	1-4	(%)
Monocite	0.3	0-0.3	10^3/µL
Leucocite total	11.85	3-11.4	10^3/µL
Neutrofile (ns)	0.15	0.1-0.75	10^3/µL
Neutrofile (seg)	0	rare	10^3/µL
Eozinofile	2.4	1-4.8	10^3/µL
Bazofile	0.3	0-0.3	10^3/µL
Limfocite			
Trombograma	325	200-500	10^3/µL
Trombocite total	0.28	0.15-0.38	%

PCT	11.6	10-12	fL
VPM	64	51-73	%
Biochimie serică			
Azot ureic	21	8-28	mg/dL
Prot totale (ser).	4,3	5.4-7.5	g/dL
Albumina	0,7	2.3-3.1	g/dL
Raport A/G		0.6-1.1	
TPTA (aPTT)	254	72-102	sec
TP (PT)	19	11-14	sec
Fibrinogen	100	150-300	mg/dl
ALAT	220	10-109	UI
ASAT	70	13-15	UI

Răspuns:

Eritrograma: Hct este scăzut, dar peste limita anemiei moderate (25%), astfel putem considera această anemie ca fiind ușoară. VEM, CHEM și Ind anizocitoză sunt normale, procentul reticulocitelor este normal, toate sunt argumente în favoarea unei anemia non-regenerative.

Leucograma și trombograma prezintă valori normale.

Biochimia plasmei: hipoalbuminemia, hipoproteinemia cu scăderea raportului albumină: globulină, fibrinogenul este scăzut. Activitatea crescută a transaminazelor sugerează o leziune hepatică, dar ar trebui să excludem alte circumstanțe patologice asociate cu creșterea activității transaminazelor.

Coagulograma: TPTA și TP sunt semnificativ prelungite, sugerează o modificare a căii comune și / sau a celei intrinseci și extrinseci.

Diagnostic general: TPTA prelungit și TP au loc în otrăvirea cu cumarină, insuficiență hepatică avansată, amiloidoză sau tulburări autoimune care vizează factorii de coagulare. În acest caz, avem indicii serioase în favoarea insuficienței hepatice. Observăm semne de insuficiență hepatocelulară, incluzând nivelul scăzute de fibrinogen, hipoalbuminemie / disproteinemie, deficit al funcției de coagulare. În plus, se observă și semne de hepatocitoliză. Ascită, datorată probabil acumulării de transudat (necesită învestigaţie), sugerează hipertensiune portală datorită rezistenței crescute în circulaţia hepatică. Desigur, sunt necesare investigații suplimentare.

5.17. Happy

Date de identificare: Câine, Airedale Terrier, 8 luni, Femelă
Anamneză: epistaxis, hematurie

	Valori	**Valori de referinţă**	**Unităţi de măsură**
Eritrograma			
Eritrocite totale	**3.39**	5.5-8.5	10^6/µL
Hb	**8**	12-18	g/dL
Hct	**25**	37-55	%
VEM	**73**	60-77	fL
HEM	**23**	19.5-24.5	pg
CHEM	**32**	32-36	g/dL
Ind anizocitoza	**17.9**	12-16	%
Reticulocite %	**4.7**	0-1	%
Ret. Conc.			
PRC			
Leucograma	**12.16**	6-17	10^3/µL
Leucocite total	**3.2**	0-3	(%)
Neutrofile (ns)	**79.93**	35-75	(%)
Neutrofile (seg)	**0.9**	2-10	(%)
Eozinofile	**0**	0-0.5	(%)
Bazofile	**13.81**	20-55	(%)
Limfocite	**1.97**	1-4	(%)
Monocite	**0.4**	0-0.3	10^3/µL
Leucocite total	**9.72**	3-11.4	10^3/µL
Neutrofile (ns)	**0.12**	0.1-0.75	10^3/µL
Neutrofile (seg)	**0**	rare	10^3/µL
Eozinofile	**1.68**	1-4.8	10^3/µL
Bazofile	**0.24**	0-0.3	10^3/µL
Limfocite			
Trombograma	**217**	200-500	10^3/µL
Trombocite total	**0.18**	0.15-0.38	%

PCT	**11**	10-12	fL
VPM	**64**	51-73	%
Biochimie serică			
Azot ureic	**19**	8-28	mg/dL
Prot totale (ser).	**6.3**	5.4-7.5	g/dL
Albumina	**2,7**	2.3-3.1	g/dL
Raport A/G		0.6-1.1	
AST	**14**	13-15	U/L
Timp de sângerare	**8**	1-5	min
TPTA (aPTT)	**112**	72-102	sec
TP (PT)	**12**	11-14	sec
Fibrinogen	**270**	150-300	mg/dl

Răspuns:

Eritrograma: Hct este scăzut, la limita anemiei moderate (25%), astfel putem considera această anemie ca fiind ușoară / moderată. VEM, CHEM sunt normale, dar ind anizocitoză mare, procentul corectat de reticulocite mare, sunt argumente pentru anemia regenerativă.

Leucograma și trombogrma prezintă valori normale. .

Biochimia plasmatică: Proteină normală, cu albumină normal şi raport albumină : globulină nemodificat, fibrinogenul în intervalul normal, transaminazele normale sugerează un ficat funcțional.

Timpul de sângerare este prelungit, această constatare corelată cu numărul normal de trombocite sugerează o alterare a funcției trombocitelor. Totuși, funcția defectuoasă a trombocitelor nu este susceptibilă să provoace o astfel de hemoragie severă.

Coagulograma: TPTA este semnificativ prelungită, în timp ce TP este normal, ceea ce sugerează o modificare a căii intrinseci.

Diagnostic general: Acest lucru se întâmplă în tulburările moștenite, cum ar fi hemofilia A / B sau boala von Willebrand (vWD). Hemofilia A / B nu explică timpul de sângerare prelungit, astfel că vWD este diagnosticul cel mai probabil. Modificarea funcției de coagulare explică hemoragia mare și, în consecință, anemia.

5.18. Hera

Date de identificare: Câine, Rasa comună, 3 ani, Femelă
Anamneză: letargie, primele semne apărute de două zile
Semne clinice: mucoase palide, hematuri, hematoame,

	Valori	**Valori de referinţă**	**Unităţi de măsură**
Eritrograma			
Eritrocite totale	**3.44**	5.5-8.5	10^6/µL
Hb	**6.8**	12-18	g/dL
Hct	**22.15**	37-55	%
VEM	**64**	60-77	fL
HEM	**19.8**	19.5-24.5	pg
CHEM	**34.8**	32-36	g/dL
Ind anizocitoza	**16.1**		%
Reticulocite %	**1.1**	0-1	%
Ret. Conc.			
PRC			
Leucograma			
Leucocite total	**4.58**	6-17	10^3/µL
Neutrofile (ns)	**0**	0-3	(%)
Neutrofile (seg)	**89.51**	35-75	(%)
Eozinofile	**1.09**	2-10	(%)
Bazofile	**0.21**	0-0.5	(%)
Limfocite	**8.51**	20-55	(%)
Monocite	**0.65**	1-4	(%)
Leucocite total	**0**	0-0.3	10^3/µL
Neutrofile (ns)	**4.1**	3-11.4	10^3/µL
Neutrofile (seg)	**0.05**	0.1-0.75	10^3/µL
Eozinofile	**0.01**	rare	10^3/µL
Bazofile	**0.39**	1-4.8	10^3/µL
Limfocite	**0.03**	0-0.3	10^3/µL
Trombograma			

Trombocite total	**193**	200-900	10^3/µL
PCT	**0.18**		%
VPM	**9.5**	10-12	fL
Ind anizocitoză	**38.4**		
Biochimie serică			
Prot totale (ser).	**4.3**	5.4-7.5	g/dL
Albumina	**1.7**	2.3-3.1	g/dL
Raport A/G		0.6-1.1	
TPTA (aPTT)	**190**	72-102	sec
TP (PT)	**18**	11-14	sec
Fibrinogen	**186**	150-300	mg/dL

Răspuns:

Eritrograma: Hct este scăzut, sub limita anemiei moderate (25%), astfel putem considera această anemie ca moderată. VEM, CHEM și ind anizocitoză sunt normale, procentul corectat de reticulocite este normal toate sunt argumente în favoarea unei anemi non-regenerative.

Leukograma: număr scăzut de leucocite, neutrofilele sunt normale, Indice Arneth nedeviat spre stânga, eozinofile și limfocitele scăzute sugerează o leucogramă de stres.

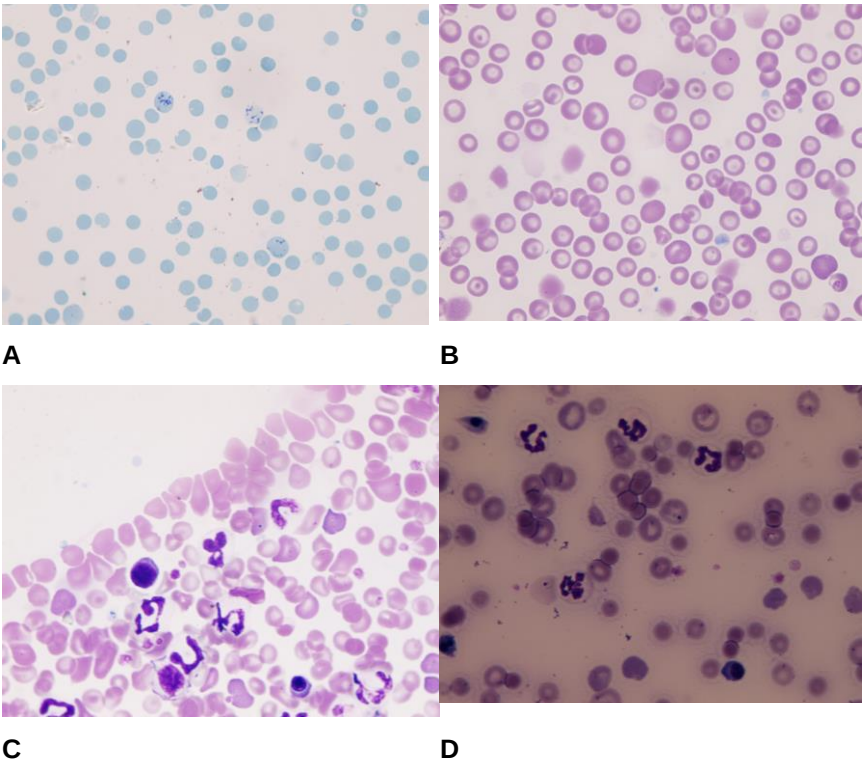
Trombogramă: trombocite scăzute, dar nu mai mici de 100 x $10^3/\mu L$.

Biochimia plasmei: hipoalbuminemia, hipoproteinemia cu raport normal albumină: globulină, fibrinogenul este normal.

Coagulograma: TPTA și TP sunt semnificativ prelungite, sugerează o modificare a căii comune și / sau a celei intrinseci și extrinseci.

Diagnostic general: TPTA și TP prelungite au loc în otrăvirea cu cumarină, insuficiență hepatică avansată, amiloidoză sau tulburări autoimune care vizează factorii de coagulare. În acest caz, nu avem indicii de a suspecta insuficiența hepatică, deoarece fibrinogenul este normal. Nivelurile scăzute de albumină se regăsesc în insuficiența hepatică, dar cu raportul de albumină modificat. În acest caz hipoproteinemia și anemia sunt mai degrabă consecințe ale hemoragiei acute. Pe baza evoluției relativ bruște, trebuie luat în considerare otrăvirea cu cumarină

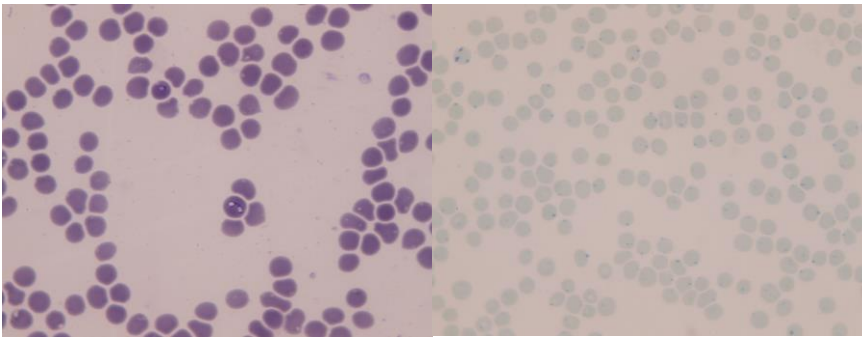
6. Anexe



Planșa 6.1. Aspecte morfologice asociate anemiilor regenerative

Reticulocitoza - Reticulocitele sunt hematii mai mari care conțin agregate granulare sau filamente numite reticulum. Albastru Briliant de Cresil, (x1000). (B) *Hematii policromatofile* sunt hematii mari colorate neomogen, ele duc la variația dimensiunii populației eritrocitare - *anizocitoză*. Pe acest frotiu sunt vizibile și celule care prezintă o zonă hipercromatică în simlare cu aspectul unei ținte – celule în țintă. Acestea sunt o

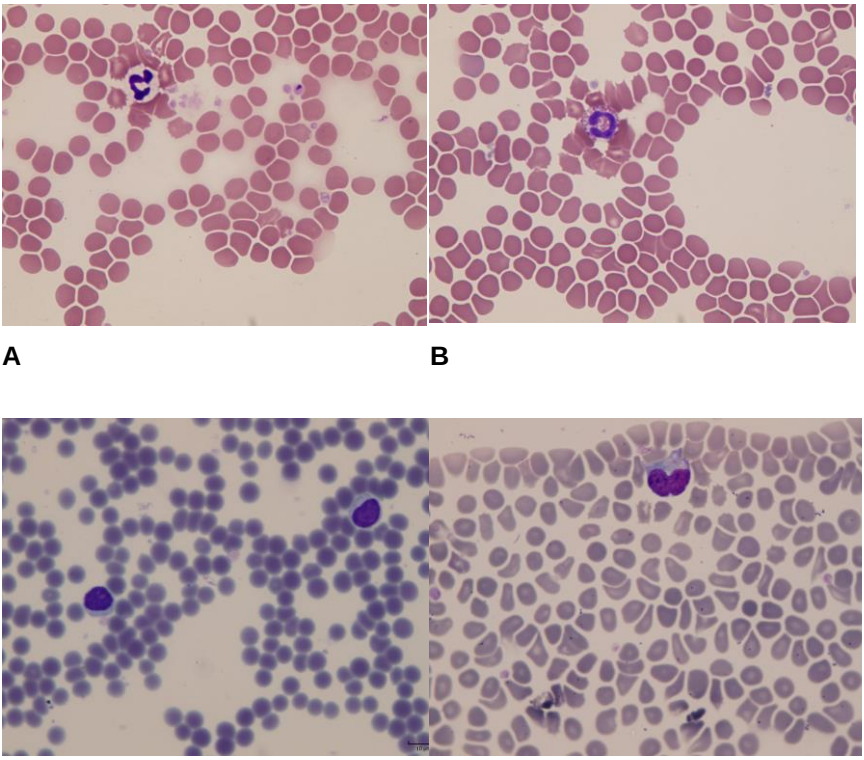
prezență normală pe frotiul de sânge de câine. (C) *Precursorii eritrocitari nucleați* cum ar fi *metarubricitul* (drepta jos) o celulă cu citoplasmă albastră, cu nucleu rotund și cromatină condensată și *rubricitul* (stânga sus) - o celulă rotundă cu un nucleu rotund cu cromatină granulară. (D) *Sferocitoza* - Sferocitele sunt eritrocite mici care nu prezintă paloare centrală, datorită formei sferice; sferocitoza sugerează o posibilă anemie hemolitică autoimună. Sunt prezente și celule policromatofile cea din centru prezintă o incluziune citoplasmică violetă – corpusculi Howell-Joly. Colorația Dia Quick Panoptic, (x1000) (frotiu de sânge de câine)



A **B**

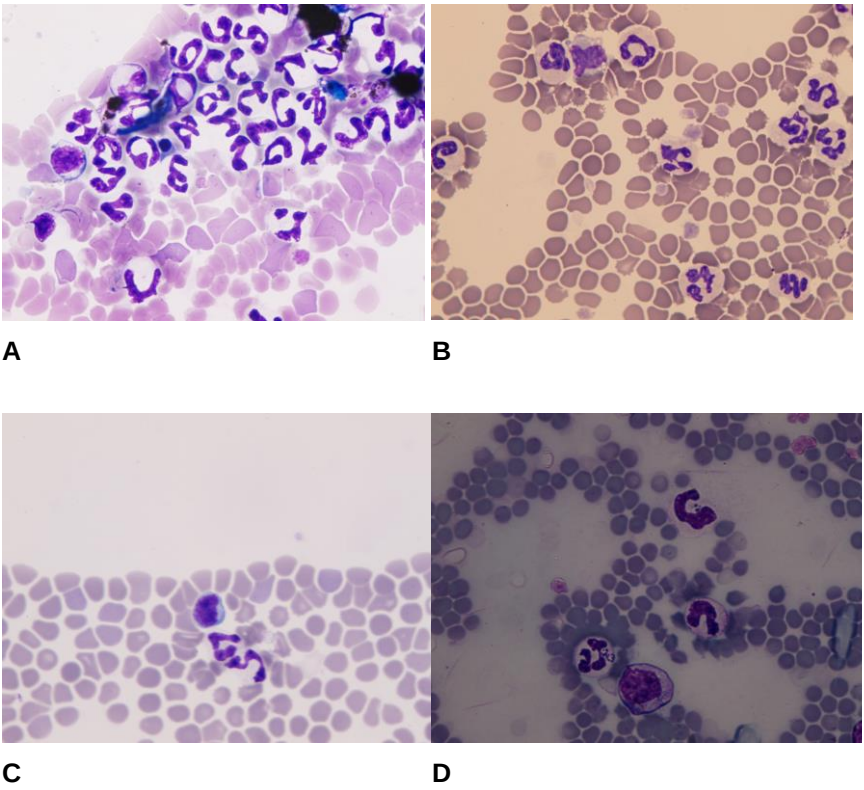
Planșa 6.2. Incluziuni eritrocitare

(A) *Babesia canis* - incluziuni albastre deschis de forma semințelor de măr (sau lacrimi). Ele apar în mod obișnuit în perechi, dar ocazional se poate vedea mai multă incluziuni, dar întotdeauna în număr par Babesioza duce la anemie hemolitică severă. Colorația Dia Quick Panoptic, (x1000) (frotiu de sânge de câine) (B) *Corpusculil Heintz* – incluzini eritrocitare de culoare albastru închis, se prezintă ca formațiuni proeminente la perfieria hematiilor. Albastru Briliant de Cresil, (x1000) (frotiu de sânge de pisică).



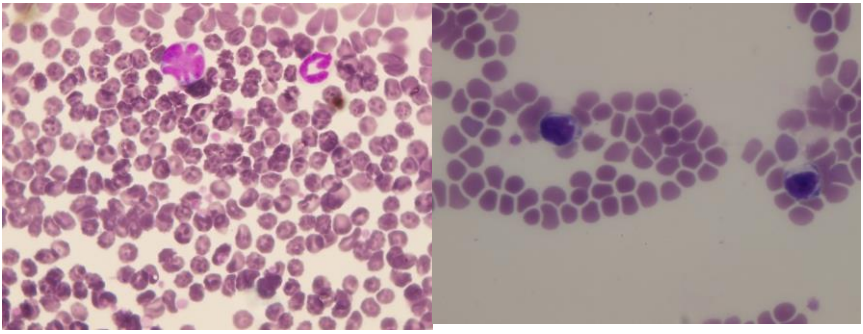
Planșa 6.3. Morfologia leucocitară normală

(A) *Neutrofil segmentat* - neutrofilele mature prezintă un nucleu segmentat și o citoplasmă roz. Dispersate printre hematii, trombocitele sunt vizibile ca structuri acelulare roz pal, singure sau aglutinate. (B) *Eozinofil* - prezintă granule citoplasmatice mari, rotunde, de culoare roșie. (C) *Limfocit* - Celula are un nucleu rotund, înconjurată de o margine de citoplasmă albastru deschis. Pot avea dimensiuni variabile, dar cel mai frecvent sunt celule mici. (D) *Monocit* - celulă mare, cu citoplasmă albastru-gri bine reprezentată; în acest caz vacuolele intracitoplasmatice lipsesc. Colorația Dia Quick Panoptic, (x1000) (frotiu de sânge de câine)

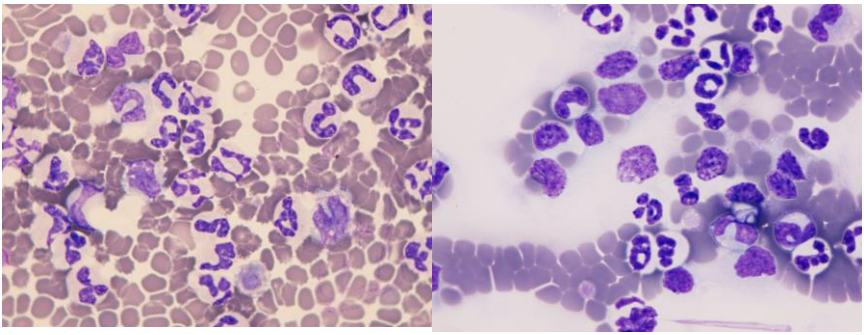


Planșa 6.4. Aspecte morfologice întâlnite în răspunsul reactiv leucocitar

Neutrofile nesegmentate - sunt neutrofile tinere cu nucleu nesegmentat în formă de potcoavă sau de S, acesta este un aspect frecvent întâlnit în leucograma inflamatorie. (B) *neutrofile segmentate* și *monocite* cu vacuole intracitoplasmatice, sunt vizibile în partea superioară a câmpului microscopic (C) *limfocitul reactiv* este caracterizat printr-o citoplasmă albastru închis, culoarea intens bazofilă se datorează sintezei crescută de proteine ca urmare a activării celulelor. (D) *Anaplasma phagocytophilum* - este vizibilă sub forma a mai multe incluziuni rotunde în interiorul neutrofilului
Colorația Dia Quick Panoptic, (x1000) (frotiu de sânge de câine)



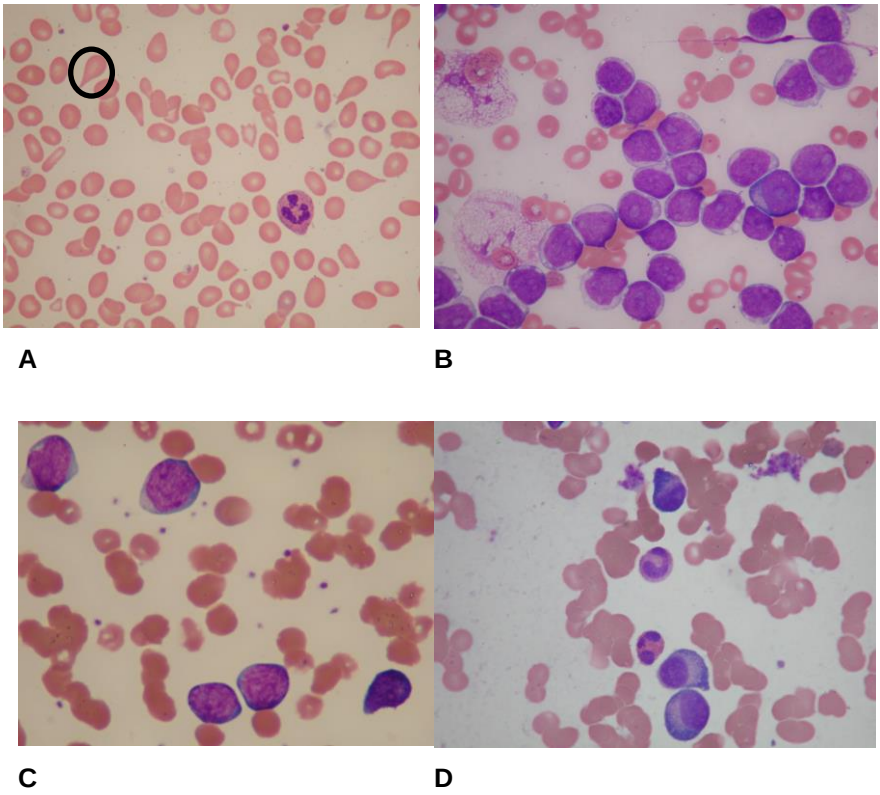
A **B**



C **D**

Planșa 6.5. Aspecte morfologice întâlnite în afecțiuni hematologice maligne

(A, B) *Limfocite atipice* - se caracterizează prin nuclee despicate sau / și nuclee cu formă anormală, (C) *Reacția leucemoidă* – neutrofile nesegmentate, precursori mieloizi și număr mare de neutrofile. În acest caz se impune diagnosticul diferențial cu *leucemia cronică granulocitică* (LCG). (D) *Limfoblaști* - limfom canin, apariția limfoblaștilor în sângele circulant;
(frotiu de sânge de câine), Colorația Dia Quick Panoptic, (x1000)



Planșa 6.6. Aspecte morfologice întâlnite în principale neoplazii hematologice

(A) *Mielofibroza* - dacriocite (hematii în formă de lacrimă), (B) *Leucemie mieloblastică acută* - un număr foarte mare de mieloblasti, celule mari cu nuclee mari, imature, citoplasmă granulară cu nucleoli mari sau multipli; pentru a-i diferenția de precursorii limfoizi este nesară marcarea imunocitochimică (C) *Leucemie limfocitară acută (LLA)* limfocite mari cu nucleu imatur mare (D) *Mielomul multiplu* – plasmocite circulante, au citoplasmă abundentă de culoare albastru închis cu nucleu excentric. Hematiile sunt depuse în *rulouri* ca urmare a stării inflamatorii (frotiu de

sânge uman) (cu amabilitatea D-nei Dr. L. Zalman) Colorația May Grunwald Giemsa, (x1000)

Tabel 6.1. *Valorile reticulocitelor la om și principalele specii de mamifere domestice și de laborator*

	Procente (%)	**Concentrație (10^3/ µL)**
Câine[1]	**0-1**	**0-80**
Pisică[1]	**0-0.6**	**0-60**
Vacă[1]	**0** (pot apărea în anemii intens regenerative)	
Cal[1]	**0 (**nu elibereaza în fluxul sanguin reticulocite, nici chiar în cazul unor anemii intens regenerative**)**	
Șoarece[2]	**0-11.3**	
Șobolan[2]	**0 – 4.6**	
Cobai[2]	**0 – 6**	
Iepure[2]	**1 – 6.3**	
Dihor[2]	**2-14**	

Om[3]	**Valori medii (%)**	**Limita superioară a valorilor normale (%)**
Adulți[3]	**0.5 – 1**	**3**
Copii[3]	**2.5 – 6.5**	**10**

[1] Stockham *and* Scott, **2002**

[2] Hrapkiewicz *and* Medina, **2007**

[3] Rapaport, **1987**

Tabel 6.2. *Valorile eritrogramei la principalele specii de mamifere domestice și de laborator*

	E tot (10^6/µl)	**Hb (g/dl)**	**Hct (%)**	**VEM (fl)**	**HEM (pg)**	**CHEM (g/dl)**
Câine[1]	**5.5-8.5**	**12-18**	**37-55**	**60-77**	**19.5-24.5**	**32-36**
Pisică[1]	**5-10**	**8-15**	**30-45**	**39-55**	**13-17**	**30-36**
Vacă[1]	**5-10**	**8-18**	**24-46**	**40-60**	**11-17**	**30-36**
Cal[1]	**6-12**	**10-18**	**32-48**	**34-58**	**13-19**	**31-37**
Porc[1]	**5-7**	**9-13**	**36-43**	**52-62**	**17-24**	**29-34**
Oaie[1]	**9-15**	**9-15**	**27-45**	**28-40**	**8-12**	**31-34**
Capră[1]	**8-18**	**8-12**	**22-38**	**16-25**	**5.2-8**	**30-36**
Iepure[1]	**5-8**	**10-17**	**33-50**	**58-67**	**17-24**	**29-37**
Șobolan [2]	**6.5-9**	**13-16.5**	**41-51**	**52.6-64.4**	**16.5-21.3**	**30.2-34.6**
Șoarece[2]	**6.5-10**	**10-16**	**32.8-48**	**42.3-56**	**13.7-18**	**29.5-31**
Hamster[2]	**2.7-12.3**	**13.4-19.2**	**48-57**	**64.8-77.6**	**-**	**-**
Cobai[2]	**4-6**	**10.5-15.3**	**34-48.3**	**75-91**	**-**	**28.2-33**
Dihor [2]	**6.8-9.8**	**14.8-17.4**	**42-55**	**42.6-51**	**13.7-16**	**30.3-34.9**

[1] Stockham *and* Scott, **2002**

[2] Hrapkiewicz *and* Medina, **2007**

Tabel 6.3. *Valorile leucogramei la principalele specii de mamifere domestice și de laborator*

	WBCs	N		E	B	M	L
		Bands	Mature				
Câine[1] 10^3/µl	**6-17**	**0-0.3**	**3-11.4**	**0.1-0.75**	**rare**	**0.1-1.3**	**1-4.8**
		0-3	**60-70**	**2-10**		**3-10**	**12-30**
Pisică[1] 10^3/µl	**5.5-19.5**	**0-0.3**	**2.5-12.5**	**0.1-0.75**	**rare**	**0-0.85**	**1.5-7**
%		**0-3**	**35-75**	**2-10**		**1-4**	**20-55**
Vacă[1] 10^3/µl	**4-12**	**0-0.12**	**0.6-4**	**0-2.4**	**0-0.2**	**0.02-0.8**	**2.5-7.5**
%		**0-2**	**15-45**	**2-20**	**0-2**	**2-7**	**45-75**
Cal[1] 10^3/µl	**6-12**	**0-0.1**	**3-6**	**0-0.8**	**0-0.3**	**0-0.6**	**1.5-5**
%		**0-1**	**30-75**	**1-10**	**0-3**	**1-8**	**25-60**
Porc[1] 10^3/µl	**11-22**	**0-0.8**	**2-15**	**0-1.5**	**0-0.5**	**0-1**	**3.8-16.5**
%		**0-4**	**20-70**	**0-15**	**0-3**	**0-10**	**35-75**
Oaie[1] 10^3/µl	**4-12**	**0**	**0.7-6**	**0-1**	**0-0.3**	**0-0.75**	**2-9**
%		**0**	**10-50**	**0-10**	**0-3**	**0-6**	**40-75**
Capră[1] 10^3/µl	**4-13**	**rare**	**1.2-7.2**	**0.05-0.6**	**0-0.12**	**0-0.55**	**2-9**
%			**30-48**	**1-8**	**0-1**	**0-4**	**50-70**
Iepure[1] 10^3/µl	**5-12.5**	**rare**	**1-9.4**	**0.05-0.5**	**0.05-0.9**	**0.05-0.5**	**1.6-10.6**
%			**20-75**	**1-4**	**1-7**	**1-4**	**30-85**
Șobolan[2] 10^3/µl	**7.3-12.6**	**0-0.02**	**1.25-3.7**	**0.04-0.3**	**0-0.03**	**0.05-0.4**	**5-9**
Șoarece[2] 10^3/µl	**2.6-10**	**0-0.02**	**0.4-2**	**0-0.17**	**0-0.02**	**0-**	**1.3-8.4**
Cobai[2] 10^3/µl	**8.2-14**	**0-0.01**	**1.35-3.6**	**0-0.69**	**0-0.02**	**0.06-0.56**	**5.5-10.5**

[1] Stockham *and* Scott, **2002**

[2] Hrapkiewicz *and* Medina, **2007**

Tabel 6.4. *Parametri biochimici plasmatici mai relevanți pentru examenul hematologic*

	Proteină totală (g/dl)	**Albumină (g/dl)**	**Globulină (g/dl)**	**Fibrinogen (mg/dl)**	**Azot ureic (mg/dl)**
Câine	**5.4–7.5**	**2.3–3.1**	**2.7–4.4**	**200-400**	**8–28**
Pisică	**6.0–7.9**	**2.8–3.9**	**2.6–5.1**	**100-300**	**19–34**
Vacă	**6.7–7.5**	**2.5–3.8**	**3.0–3.5**	**300-700**	**10–25**
Cal	**5.6–7.6**	**2.6–4.1**	**2.6–4.0**	**100-400**	**11–27**
Porc	**7.9–8.9**	**1.9–3.9**	**5.3–6.4**		**10–30**
Oaie	**6.0–7.9**	**2.4–3.0**	**3.5–5.7**	**100-500**	**8–20**
Capră	**6.4–7.0**	**2.7–3.9**	**2.7–4.1**	**100-400**	**10–20**
Iepure	**5.4–7.5**	**2.7–5.0**	**1.5–2.7**		**20–45**

[1] Merck Veterinary Manual

Bibliografie

1. Andrews R, Berndt M. Platelet physiology and thrombosis. *Thromb Res* **2004**; 114:447.
2. Cotran RS, Kumar V, Colins T. Robbins Pathologic Basis of Disease 6th edition. **1999**; *W.B. Saunders, Philadelphia, Pennsylvania, USA.*
3. Coughlin S. Protease-activated receptors in hemostasis, thrombosis and vascular biology. *J Thromb Haemost* **2005**; 3:1800.
4. Crawley J, et al. The central role of thrombin in hemostasis. *J Thromb Haemost* **2007**; 5(Suppl 1):95.
5. Crawley J, Lane D. The haemostatic role of tissue factor pathway inhibitor. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* **2007**; 14:447.
6. Cyster JG. Chemokines and cell migration in secondary lymphoid organs. *Science* **1999**; 286:2098.
7. Dunlop RH, Malbert CH. Veterinary Pathophysiology. **2004**; *Blackwell Publishing, Oxford UK*
8. Estridge BH, Reynolds AP, Walters NJ, **2000**, Basic Medical Laboratory Technicques 4th Edition, *Thomson Learning, London UK*
9. Foureman P, Whiteley M, Giger U. Canine leukocyte adhesion deficiency: presence of the cys36ser beta-2 integrin mutation in an affected us Irish setter cross-breed dog and in us Irish red and white setters. *J Vet Intern Med*. **2002**; 16(5):518-23.
10. Gabay C, Kushner I. Acute-phase proteins and other systemic responses to inflammation. *N Engl J Med* **1999**; 340:448.

11. Ganz T. Molecular control of iron transport. *J Am Soc Nephrol* **2007**; 18:394.
12. Gordon S, Taylor PR. Monocyte and macrophage heterogeneity. *Nat Rev Immunol* **2005**; 5:953.
13. Heyworth PG, et al. Chronic granulomatous disease. *Curr Opin Immunol* **2003**; 15:578.
14. Hoffman M, Monroe D. Coagulation: a modern view of hemostasis. *Hematol Oncol Clin North Am* **2007**; 21:1.
15. Hrapkiewicz K, Medina L. Clinical Laboratory Animal Medicine – An Introduction. 3rd edition **2007**; *Blackwell Publishing Ames, Iowa USA*
16. Jackson MJ, Veterinary Clinical Pathology an Introduction, **2007**; *Blackwell Publishing, Oxford UK*
17. Keer MG. Veterinary Laboratory Medicine – Clinical Biochemistry and Hematology 2nd Edition, **2002**; *Blackwell Science Ltd, Oxford UK.*
18. Kerr MG *and colab*. Veterinary Laboratory Medicine 2nd Edition, **1989**; *Blackwell Science*
19. Kittrell D, Berkwitt L. Hypercoagulability in dogs: Pathophysiology. *Compendium: Continuing education for veterinarians* **2012**;
20. Kumar V, Abbas AK, Aster JC. Robbins & Cotran Pathologic Basis of Disease 9th edition, **2015**; *Saunders Elsevier, Philadelphia, Pennsylvania, USA.*
21. Latimer KS. Duncan and Prasse's veterinary laboratory medicine: Clinical pathology 5th edition, **2011**; *Wiley-Blackwell, Ames, Iowa, USA.*
22. Levi M. Disseminated intravascular coagulation. *Crit Care Med* **2007**; 35:21915.

23. Mayer DJ, Harvey JW. Veterinary Laboratory Medicine: Interpretation and Diagnosis, 3rd edition, **2004**; *Elsevier Saunders*

24. Nagahata H. Bovine leukocyte adhesion deficiency (BLAD): a review. *J Vet Med Sci*, **2004**; 66(12):1475-82.

25. Rapaport S, 1987 Introduction to hematology - 2nd Edition, *J.P. Lippincott*

26. Rose BD, Post TW. Clinical Physiology of Acid-Base and Electrolyte Disorders, 5th edition **2001**; *McGraw-Hill, New-York, USA*

27. Rosenfeld AJ, Dial SM. Clinical Pathology for the Veterinary Team, **2010**; *Wiley-Blackwell, Ames, Iowa, USA*

28. Stockham SL, MA Scott, **2002**, Fundamentals of Veterinary Clinical Pathology 2nd Edition,*Blackweell Publishing, Oxford UK*

29. Thrall AM and colab., **2006**, Veterinary Hematology and Clinical Chemistry. *Blackweell Publishing, Oxford UK*

30. Weiss DJ, Wardrop KJ. Schalm's Veterinary Hematology 6th Edition, **2010;** *Blackwell Publishing, Oxford UK*